

UNIVERSITE DE PARIS

# FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 68.

## Contribution au dosage et à l'étalonnage biologique des Extraits Gonadotrophiques Préhypophysaires et Placento-urinaires

### THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université  
(Pharmacie)

présentée et soutenue le

20 MARS 1943

PAR

**Pierre ARDOINT**

JURY {

MM. LAUNOY, Président.  
REGNIER, Professeur.  
JANOT, Professeur.

PARIS - VI°

VIGOT FRÈRES, EDITEURS

23, RUE DE L'ECOLE-DE-MÉDECINE

1943



## FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

---

Nom du Candidat : **ARDOINT.**

Prénom : **Pierre.**

---

Date de la soutenance : .....

Numéro d'ordre : .....

**ARDOINT (Pierre).** — Contribution au dosage et à l'étalonnage des extraits gonadotrophiques pré-hypophysaires et placento - urinaires. — *Paris, Vigot Frères, 1943, in-8°, 124 p., 4 fig.*

*Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943, Série Univ. n° 68.*

**ARDOINT (Pierre).** — Contribution au dosage et à l'étalonnage des extraits gonadotrophiques pré-hypophysaires et placento - urinaires. — *Paris, Vigot Frères, 1943, in-8°, 124 p., 4 fig.*

*Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943, Série Univ. n° 68.*

**ARDOINT (Pierre).** — Contribution au dosage et à l'étalonnage des extraits gonadotrophiques pré-hypophysaires et placento - urinaires. — *Paris, Vigot Frères, 1943, in-8°, 124 p., 4 fig.*

*Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943, Série Univ. n° 68.*

**ARDOINT (Pierre).** — Contribution au dosage et à l'étalonnage des extraits gonadotrophiques pré-hypophysaires et placento - urinaires. — *Paris, Vigot Frères, 1943, in-8°, 124 p., 4 fig.*

*Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943, Série Univ. n° 68.*



UNIVERSITE DE PARIS

---

# FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 68.

---

## **Contribution au dosage et à l'étalonnage biologique des Extraits Gonadotrophiques Préhypophysaires et Placento-urinaires**

---

### **THÈSE**

**pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université  
(Pharmacie)**

*présentée et soutenue le*

PAR

**Pierre ARDOINT**

---

JURY {

MM. LAUNOY, Président.  
REGNIER, Professeur.  
JANOT, Professeur.

---

PARIS - VI<sup>e</sup>

VIGOT FRÈRES, EDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1943



# Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

## ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.  
 H. HERISSEY, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.  
 H. J. LIONNET, *Secrétaire*, ☉ I.

## PROFESSEURS

|                             |                                                                |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------|
| MM. DAMIENS, O. ✱, ☉ I..... | Chimie minérale.                                               |
| HERISSEY, O. ✱, ☉ I.....    | Chimie biologique.                                             |
| SOMMELET, ✱, ☉ I.....       | Chimie organique.                                              |
| FABRE, ✱, ☉ I.....          | Toxicologie.                                                   |
| LAUNOY, O. ✱, ☉ I.....      | Zoologie.                                                      |
| DELABY, ✱, ☉ I.....         | Pharmacie chimique.                                            |
| PICON, ✱, ☉ I.....          | Physique.                                                      |
| MASCRE, ✱, ☉ I.....         | Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale. |
| BACH, ✱, ☉ I.....           | Botanique générale.                                            |
| FLEURY, ☉ I.....            | Chimie Analytique.                                             |
| REGNIER, ☉ I.....           | Microbiologie.                                                 |
| JANOT, ☉ A.....             | Pharmacie Galénique.                                           |

*Doyens honoraires* : MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I. — GUERIN, O. ✱, ☉ I.

### *Professeurs honoraires* :

MM. DELEPINE, O. ✱, ☉ I et LEBEAU, O. ✱, ☉ I, Membres de l'Institut.  
 PERROT, C. ✱, ☉ I, COUTIERE, O. ✱, ☉ I, BOUGAULT, O. ✱, ☉ I, LUTZ, ✱, ☉ I, GORIS, O. ✱, ☉ I.

## MAITRES DE CONFERENCES

|                        |                                                            |
|------------------------|------------------------------------------------------------|
| MM. BEDEL, ✱, ☉ I..... | Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.   |
| CHARONNAT, ☉ I.....    | Hydrologie et Hygiène.                                     |
| VALETTE, ☉ A.....      | Cryptogamie et technique microbiologique. Pharmacodynamie. |
| FONTAINE.....          | Histoire naturelle.                                        |
| GUILLOT.....           | Sciences physiques et chimiques.                           |
| PARIS.....             | Sciences naturelles.                                       |

## CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

|                                                                              |                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| MM. DOMANGE, ☉ A, trav. prat. de 1 <sup>re</sup> an.                         | Chimie générale et pharmaceutique.                     |
| GAUTIER, ☉ A, trav. pratiques de 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> année..... | Chimie analytique.                                     |
| N.....                                                                       | Micrographie.                                          |
| CORRIEZ, ☉ A.....                                                            | Physique.                                              |
| DAVID, ☉ A.....                                                              | Microbiologie.                                         |
| COURTOIS.....                                                                | Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique. |

*Bibliothécaire en Chef* : M. GARNIER, ☉ A.

*Bibliothécaire* : M<sup>lle</sup> LAVAUD, ☉ A.



A MES GRANDS-PARENTS

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

*Faible témoignage de ma profonde  
affection et de ma reconnaissance  
infinie.*

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR TIFFENEAU

Membre de l'Académie de Médecine  
Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Médecine

*Qui a bien voulu nous diriger dans  
nos recherches avec un bienveillant  
intérêt.*

*Hommage de respectueuse et pro-  
fonde reconnaissance.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAUNOY

Professeur à la Faculté de Pharmacie

*En témoignage de respectueuse  
gratitude pour le grand honneur  
qu'il nous a fait en acceptant la pré-  
sidence de cette thèse.*



## INTRODUCTION

De tous les dosages biologiques, c'est celui de la préhypophyse qui présente le plus gros intérêt. En effet, l'activité physiologique de cette glande est à la fois si grande et si variable, son intérêt thérapeutique est si considérable que son dosage et son étalonnage s'imposent.

Ce dosage a d'ailleurs fait l'objet de multiples mais vaines recherches, car il est indispensable pour résoudre le difficile problème de l'isolement des hormones spécifiques et celui de la préparation d'extraits opothérapiques actifs. La question de l'étalonnage présente une telle importance qu'elle a été envisagée par la Commission d'Hygiène de la Société des Nations. Un rapport du 9 septembre 1932, adressé aux Laboratoires Officiels de contrôle des diverses Nations, préconisait « de discuter les essais comparatifs des préparations renfermant l'hormone gonadostimulante de la préhypophyse ou de leurs équivalents en activité, obtenus à partir de l'urine ou du placenta, en comparant les différentes méthodes de mesure pour cette forme d'activité, et les différentes unités déjà en usage pour son expression quantitative ».

Au cours de nos travaux, une première Commission s'est réunie à Genève le 14 août 1939, sans pouvoir prendre de décision en ce qui concerne le choix

de l'étalon des préparations hypophysaires, ni même celui de la méthode de dosage de ces préparations ; seul un étalon placento-urinaire a été institué.

Le Codex Français de 1937, qui a préconisé le dosage biologique de certains médicaments, n'a pu prendre non plus aucune décision pour la préhypophyse. Enfin, les laboratoires chargés de décider de l'autorisation de la mise en vente des solutés injectables préhypophysaires ne possèdent eux-mêmes aucune méthode de dosage éprouvée permettant de contrôler l'efficacité de ces produits. La Commission des Sérums et Solutés injectables de l'Académie de Médecine ayant chargé M. le Doyen TIFFENEAU d'étudier la mise au point de ces méthodes, nous avons, sous sa direction, tenté d'aborder ce problème, tout au moins pour ce qui concerne les préparations gonadotrophiques (1).

Dans un si difficile problème, une première étude préliminaire s'impose, concernant le choix d'une méthode de dosage précise et rigoureuse. A ce sujet et en se bornant aux préparations gonadotrophiques, la littérature est très abondante, mais extraordinairement confuse et contradictoire (2); alors que dans le

---

(1) La Conférence Internationale a décidé de désigner sous ce nom les préparations à activité sur les gonades.

(2) La Nomenclature est elle-même très contradictoire. Dans ce travail nous désignerons par le nom d'extrait préhypophysaire gonadotrophique les préparations glandulaires qu'on désigne sous le nom d'extrait d'hypophyse antérieure, de l'antéhypophyse ou de préhypophyse gonadotrope, et par le nom d'extrait placento-urinaire les préparations extraites d'urine de femme enceinte appelées aussi prolân, hormone gonadotrope et improprement hormone gonadotrope de l'hypophyse.

cas des dosages biologiques des autres substances médicamenteuses on ne préconise qu'une ou deux espèces animales et qu'un seul test, les techniques proposées ici varient considérablement à la fois par la nature de l'espèce et l'état physiologique des animaux servant de sujets d'expérience et par le test adopté dans ce dosage.

La question du choix de la méthode n'était pas seulement très confuse, les moyens de l'étudier étaient eux aussi difficiles dans notre ignorance même de les classer et dans l'impossibilité d'expérimenter sur un produit défini et d'activité constante. On pouvait cependant adopter un extrait opothérapique quelconque conservé avec précaution, afin qu'il reste toujours identique à lui-même. Une telle méthode ne permet pas de résoudre définitivement le problème, car il existe dans le commerce des produits d'origines différentes et qui, ne renfermant pas les mêmes principes actifs, ne présentent pas le même effet thérapeutique. On sait, en effet, depuis les travaux d'Evans et ses collaborateurs, qu'il convient de distinguer nettement les préparations retirées de l'urine de femme enceinte de celles extraites de la préhypophyse. C'est pourquoi il a été nécessaire d'expérimenter sur deux séries de produits sur lesquels nous avons parallèlement étudié différentes méthodes de dosage. La comparaison des résultats a permis de décider du choix de la méthode la meilleure, non seulement pour sa commodité et sa précision, mais encore pour sa spécificité, c'est-à-dire la possibilité de différencier les extraits placento-urinaires des extraits préhypophysaires.

Les résultats obtenus permettent alors d'étudier avec sécurité l'autre problème, à savoir le choix des étalons. Ici encore, la même difficulté se présente,

puisque ceux-ci doivent être différents pour les deux types de préparations et nous avons dû les envisager. Pour l'un, la question n'est pas résolue, faute d'avoir une hormone pure ou même un mode optimum d'extraction à partir d'une poudre. Pour l'autre, il nous a été possible de nous procurer un extrait placento-urinaire très concentré, voisin de la pureté, que nous avons donc choisi comme étalon.

Il restait à préciser le titre de cet étalon qu'on pouvait choisir comme un mélange dilué de préparations de différentes origines ou au contraire comme le produit le plus actif ; c'est cette deuxième conception que nous avons adoptée.

Un dernier point tout différent du précédent est le titre minimum qu'il convient d'exiger des préparations commerciales. C'est là un problème de clinique et non pharmacologique, et c'est l'expérience ultérieure qui, comme pour les autres produits opothérapiques, permettra de le résoudre.

\*  
\*\*

Notre travail comprend quatre parties :

— Dans une première partie, nous nous sommes attachés à la mise au point des techniques de dosage des préparations gonadotrophiques préhypophysaires et placento-urinaires ;

— Dans une deuxième partie, nous avons exposé les résultats des déterminations effectuées par les diverses méthodes ci-dessus décrites ;

— La troisième partie est consacrée à l'étude critique de ces méthodes ;

— Enfin, dans la dernière, nous avons décrit la préparation et la stabilité d'un étalon destiné à servir de référence pour les dosages, et discuté du choix de son titre.

## PREMIERE PARTIE

### MISE AU POINT DE QUELQUES TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES DE DOSAGE

La mise au point d'un dosage biologique nécessite toujours un grand nombre de recherches expérimentales ; or, de toutes les substances médicamenteuses, c'est sans doute la préhypophyse qui a fait l'objet du plus grand encore, et cependant la question reste entière.

Depuis les expériences de SMITH et ZONDECK, qui datent déjà de 1928, sur les effets de l'implantation d'hypophyse sur l'animal hypophysectomisé et les travaux d'EVANS sur le développement somatique, d'HOUSSAY, ANSELMINO et HOFFMANN sur le métabolisme des glucides, l'attention des chercheurs a été éveillée par la multiplicité du rôle fonctionnel de la préhypophyse, et partant, de nombreuses méthodes, basées sur chacune des fonctions de la glande vis-à-vis des différents appareils et organes, ont été proposées. On conçoit, en effet, que le problème du titrage des principes actifs préhypophysaires soit d'une importance capitale : non seulement il conduit à étalonner les extraits thérapeutiques d'activité très inconstante, mais encore il permet de guider les chercheurs dans leurs tentatives de fractionnement

des principes préhypophysaires et l'isolement des hormones responsables de l'activité fonctionnelle de la glande. Or, seule la méthode biologique permet de résoudre un tel problème, comme déjà elle avait conduit, grâce au test de PÉZARD, à l'isolement de l'hormone testiculaire.

Les méthodes de titrage des extraits préhypophysaires actuellement proposées sont multiples ; elles ont trait aux divers effets physiologiques de la glande, en particulier sur la croissance, les métabolismes des glucides et des lipides, enfin sur le fonctionnement des principales autres glandes endocrines. C'est au problème du titrage de l'activité gonadotrophique, peut-être le plus important au point de vue thérapeutique, que nous avons limité les recherches. A ce point de vue, les travaux sont très nombreux et cependant les résultats sont très confus et très contradictoires, par suite de la grande divergence des expérimentateurs à la fois sur l'espèce animale expérimentée, sur l'état physiologique des sujets dans une même espèce, sur le caractère fonctionnel utilisé comme test et enfin sur la nature essentiellement différente des produits employés pour les recherches. Nous rappellerons brièvement, dans les lignes qui vont suivre, quels sont ces faits contradictoires.

*Espèce et état physiologique des animaux.* — Ce sont le rat et la souris qui ont servi aux premières expériences d'extraction de l'activité gonadotrophique des préparations préhypophysaires (ZONDEK). Quelques années plus tard, un autre rongeur a été adopté par HILL, PARKES et WHITE, ROWLANDS, BRINDEAU et HINGLAIS. On a fait choix d'oiseaux : poule (NOETTER), coq (FUGANGER), pigeon (RIDDLE). Enfin des animaux très différents comme le crapau (BELLERBY) et la

grenouille (BELLERBY, SCHAPIRO et ZWARENSTEIN) ont été utilisés. Il est très vraisemblable qu'aucune comparaison n'est valable entre des espèces si diversement sensibles. Même sur des animaux de même espèce, les expériences ne sont pas comparables, si l'état physiologique, le stade de maturité sexuelle, l'âge, et dans certains cas la vie sexuelle de l'animal, sont différents. Bien plus, on peut supposer que la sensibilité n'est pas uniforme suivant la souche d'animaux, suivant la richesse en vitamines de la nourriture, qui peuvent exercer vis-à-vis des principes gonadotrophiques un effet tantôt synergique, tantôt antagoniste.

*Nature du test.* — La nature du test adopté par les différents auteurs est également très variée. Les uns adoptent le développement des organes génitaux eux-mêmes : augmentation de volume ou de poids des ovaires (EVANS, MEYER et SIMPSON) ou des testicules (RIDDLE). Dans d'autres cas, au contraire, c'est la stimulation des organes génitaux caractérisée par le développement des organes sexuels secondaires qui est utilisée : augmentation de poids de l'utérus (Cahen et Ardoint), des vésicules séminales, de la prostate (Korenchevsky, Dennison et Simpson), des glandes préputiales, apparition d'œstrus ou ouverture du vagin. Parmi ces caractères, il faut encore citer deux tests qui sont sous la dépendance d'hormones différentes : la maturation folliculaire et la production de corps jaunes, ce qui correspond à la classification plus ou moins artificielle de Zondek en réactions I, II et III, la réaction I étant l'accroissement folliculaire, la réaction II l'apparition de follicules hémorragiques, et la réaction III l'apparition des corps jaunes.

*Nature des produits utilisés.* — Même en classant les espèces animales et les tests, il est difficile de se faire une idée de l'activité des préparations commerciale de préhypophyse en faisant la moyenne des résultats obtenus par les différents auteurs : ceux publiés sur un même animal et sur un même test sont souvent très différents et varient du simple au quadruple. Ceci nous semble tenir à la nature elle-même des produits utilisés. On distingue actuellement, en effet, trois types de préparations hypophysaires : le produit glandulaire, extrait de la préhypophyse elle-même, le sérum de jument gravide et les prolans placento-urinaires, qui d'abord avaient été confondus avec les premiers et qui, comme ils sont plus faciles à se procurer, et d'un prix de revient moindre, sont confondus par l'industrie et le commerce sous le nom d'hormone du lobe antérieur de l'hypophyse.

Il faut, en outre, parler de divers produits isolés par certains auteurs et qui se rattachent aux précédents. Une erreur de ZONDEK avait fait supposer qu'il existait dans les extraits placento-urinaires des prolans A et B identiques aux principes folliculo-stimulant et lutéinisant de la préhypophyse. Ces deux principes préhypophysaires sont aujourd'hui reconnus : l'un folliculo-stimulant produisant l'ovulation chez la femelle et la spermatogénèse chez le mâle, l'autre lutéinisant amenant la formation de corps jaunes sur l'ovaire et stimulant les cellules interstitielles du testicule, mais leur identité avec les produits urinaires est très discutée. Enfin, EVANS et ses collaborateurs sont arrivés à isoler du lobe antérieur de l'hypophyse un principe auquel ils ont donné le nom de facteur synergique et qui, associé au prolane, aurait la même action que le produit glandulaire.

Pour mettre un peu d'ordre dans cet état de choses, nous avons essayé les différentes méthodes que nous avons mises au point, non pas sur une seule préparation, mais sur deux produits d'origine connue et purs, l'un placent-urinaire, l'autre préhypophysaire. Éliminant d'emblée la grenouille et le crapaud qu'il est difficile de trouver régulièrement dans les laboratoires et qui ne sont pas utilisables à toutes les périodes de l'année, nous avons mis au point des méthodes utilisant le rat et la lapine. Pour le rat mâle, nous avons choisi différents tests : les uns déjà préconisés par certains auteurs, consistant dans l'augmentation de poids ou de volume des vésicules séminales et de la prostate (BORST et GOSTIMIROVIC, BROUHA et SIMONNET, KORENCHEVKY, DENNISON et SIMPSON), et un autre qui nous est personnel : l'augmentation des glandes préputiales.

Sur le rat femelle, nous avons pris comme tests l'augmentation de poids de l'utérus (CAHEN et ARDOINT) ou de l'ovaire, déjà préconisée par EVANS, MEYER et SIMPSON, FLECHMANN, COLE et HART, COLE, GUILBERT et GOSS, HILL, PARKES et WHITE, HAMBURGER et PEDERSEN-BJERGAARD, DEANESLY, ROWLANDS, et enfin R.-C. D'AMOUR et F.-E. D'AMOUR.

Chez la lapine, nous avons adopté un test très différent, à savoir : l'ovulation.

Toutes ces méthodes sont d'exécution aisée et peu onéreuses ; malheureusement, elles ne sont pas spécifiques des préparations préhypophysaires ; aussi avons-nous tenté de mettre au point des méthodes d'essai utilisant le rat hypophysectomisé et le coq impubère.



## CHAPITRE PREMIER

METHODES DE DETERMINATION  
 DE L'ACTIVITÉ GONADOTROPHIQUE  
 PAR LES MODIFICATIONS DES ORGANES SEXUELS  
 CHEZ LE RAT.

Nos premières expériences ont consisté à mettre au point une méthode déjà éprouvée pour la testostérone et la folliculine, abordée surtout du point de vue qualitatif et presque exclusivement avec les extraits placento-urinaires par certains auteurs, et basée sur l'accroissement des organes sexuels secondaires de l'animal impubère. Nous avons systématiquement étudié ces divers tests, afin de déterminer quelles étaient la sensibilité, la fidélité et la précision des méthodes de dosage basées sur ceux-ci. D'autres tests ont été envisagés également par nous : ouverture du vagin et formation de corps jaunes chez la femelle, mais les quelques essais que nous avons entrepris nous ont montré qu'ils n'étaient pas satisfaisants et nous avons dû les abandonner. Nous examinerons successivement ces divers points.

*Observation des corps jaunes.* — Les méthodes utilisant ce test se proposent, soit de chercher la dose minimum amenant la formation d'au moins un corps jaune, soit la dose produisant des corps jaunes sur un certain pourcentage d'animaux (ROWE, SIMON et NELSON, LOESER, JANSSEN et LOESER). Pour contrôler la

formation des corps jaunes, l'emploi d'un microscope est souvent nécessaire et les essais que nous avons faits nous permettent de conclure que l'interprétation des résultats est toujours très délicate, surtout aux doses intermédiaires de 50 à 80 % qui sont justement les plus importantes pour le dosage. Nous avons donc abandonné cette méthode.

*Ouverture du vagin.* — Ce test qui paraît intéressant car il évite de sacrifier l'animal, est très délicat et imprécis ; d'une part, en effet, une simple traction suffit quelquefois à provoquer l'ouverture du vagin et rien n'indique le moment où on doit le compter comme ouvert ; d'autre part, la fréquence des cas positifs varie beaucoup suivant les souches. Les résultats consignés sur notre cahier d'expériences montrent, en effet, que les animaux d'une même souche ont leur vagin ouvert, alors que pour ceux d'une autre il reste fermé.

Ces divers faits nous ont conduit à chercher d'autres méthodes utilisant des tests plus objectifs et comportant exclusivement des pesées, c'est-à-dire des opérations qui sont essentiellement indépendantes du coefficient personnel. Dans les chapitres qui vont suivre, nous examinerons la mise au point des techniques, successivement chez le rat mâle et le rat femelle.

#### I. - Rat mâle impubère

Avant de décrire la technique expérimentale de dosage, nous envisagerons les conditions que nous avons reconnues nécessaires pour effectuer la mesure de la façon la plus précise.

## 1° CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

a) *Choix des animaux.* — Pour que la méthode donne des résultats constants et rigoureux, l'âge et, partant, l'état de maturité sexuelle des animaux doivent être précisés et adoptés uniformément : ceux-ci doivent être âgés de 22 à 25 jours ; à cet âge, en effet, les rats sont sevrés et toujours impubères, quelle que soit la souche ; d'autre part, leurs organes se montrent plus sensibles aux produits gonadotrophiques. Une autre précaution importante est de tenir compte des variations de sensibilité inhérentes à la souche et, à cet effet, d'envisager l'accroissement de poids des organes par rapport à un témoin de la même portée. Pour avoir toute sécurité à ce point de vue, nous avons fait l'élevage de nos animaux, et pour bien isoler chaque portée, nous avons mis à part chaque femelle gravide dans une boîte métallique sur laquelle nous indiquions la date de naissance des jeunes. Pour la reproduction, on accouple deux femelles avec un mâle et chacune d'elles est isolée après un délai de quinze jours.

b) *Mode de traitement.* — Pour l'administration des produits, les animaux sont répartis en tenant compte de leur souche. L'extrait est injecté par voie sous-cutanée dans la région dorsale ou ventrale, à raison de une injection par jour pendant 7 jours. KORENCHEVSKY répartit les doses en 3 jours à raison de 3 injections par jour. Nous avons constaté que les injections fractionnées en plusieurs jours donnent, pour une même dose, un accroissement plus élevé des organes, ce qui concorde avec les résultats de DEANESLY. Le huitième jour, les animaux sont laissés au repos et sacrifiés le neuvième jour, afin de procéder à la dissection des organes.

## 2° TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE.

a) *Dissection.* — L'animal est sacrifié au gaz d'éclairage ou mieux par section des deux carotides. On incise la région pubienne au-dessus du pénis, on découvre les

deux glandes préputiales, que l'on enlève avec précaution à l'aide de deux pinces fines en évitant de perdre la substance qu'elles contiennent ; les glandes sont disséquées à l'aiguille pour séparer les parties étrangères et plongées dans le fixateur. Puis on continue l'exploration de la région sous-abdominale médiane en cherchant la vessie, et, rabattant celle-ci, on aperçoit les deux vésicules séminales se rattachant à la prostate. On dissèque celle-ci le plus en arrière possible pour être certain de l'avoir toute entière, et l'on sépare à l'aide de ciseaux fins les parties de l'appareil génito-urinaire. On place alors celui-ci sur une plaque de verre et on dissèque la prostate et les deux vésicules que l'on porte ensuite dans le fixateur.

b) *Fixation.* — Le fixateur que nous avons adopté est le liquide de Bouin légèrement modifié, qui nous a toujours donné d'excellents résultats. La fixation est indispensable pour éviter l'autolyse et toute modification des glandes et permettre la standardisation. Elle nous a semblé préférable à la pesée à sec, telle que l'emploient GAYET, CUNY et QUIVY. D'autres auteurs pèsent à l'état frais (HILL, PARKES et WHITE, HAMBURGER et PEDERSEN-BJERGAARD) ou après plongée dans l'eau salée (R.-C. D'AMOUR et F.-E. D'AMOUR), ou après fixation par liquide de Bouin, puis plongée dans l'alcool (DEANESLY).

La formule du fixateur que nous avons toujours employé est la suivante :

|                        |          |
|------------------------|----------|
| Acide picrique .....   | 3 gr. 75 |
| Formol officinal ..... | 75 cc.   |
| Acide acétique .....   | 50 cc.   |
| Urée .....             | 5 gr.    |
| Eau distillée .....    | 375 cc.  |

c) *Pesée.* — Après un séjour de 24 heures dans le liquide de Bouin, les organes sont épongés entre deux feuilles de papier filtre et on les pèse par la méthode de double pesée à la balance de précision.

d) *Tests utilisés.* — Les tests utilisés sont l'augmentation de poids des glandes préputiales, des vésicules séminales, de la prostate, de ces deux organes réunis, des animaux injectés, par rapport aux mêmes organes des animaux témoins. On rapporte le poids de chaque organe à 100 grammes. Récemment, GAYET, CUNY et QUIVY ont confirmé nos vues sur la nécessité de rapporter le poids des organes à celui de l'animal.

## II. - Rat femelle impubère

La technique est semblable à celle employée pour le rat mâle, les tests seuls sont différents.

### 1° CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

a) *Choix des animaux.* — Pour les mêmes raisons qu'avec le rat mâle, nous avons choisi des animaux de 22 à 25 jours, en les répartissant suivant les souches.

b) *Mode de traitement.* — Le produit est injecté en 7 doses quotidiennes, comme pour les mâles. On laisse les animaux en repos pendant 24 heures et on les sacrifie le neuvième jour.

### 2° TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE.

a) *Dissection.* — Les animaux sacrifiés au gaz d'éclairage sont ouverts. On cherche les deux branches utérines au bout de chacune desquelles on trouve un ovaire. On sépare le tout du reste du corps et on sectionne l'utérus juste à sa rencontre avec le vagin ; ce point est facile à voir car il s'y produit un étranglement. On dissèque soigneusement pour enlever toute partie étrangère et on plonge les organes dans le liquide de Bouin.

b) *Fixation et pesée.* — La technique est celle décrite ci-dessus pour les organes mâles.

c) *Tests utilisés.* — Ce sont les pourcentages d'accroissement de poids des ovaires et de l'utérus par rapport aux mêmes organes des témoins calculés pour un poids de 100 grammes d'animal.

## CHAPITRE II

### DETERMINATION DE L'ACTIVITÉ GONADOTROPHIQUE PAR LA MÉTHODE STATISTIQUE DE L'OVULATION CHEZ LA LAPINE

La lapine est l'animal qui avait été proposé par FRIEDMAN pour le diagnostic de la grossesse. Il nous a semblé intéressant de l'utiliser pour effectuer la détermination quantitative de l'activité gonadotrophique des extraits préhypophysaires. Deux méthodes pouvaient être envisagées à cet effet : soit chercher par tâtonnement la dose minimum active, soit employer une méthode statistique établissant les pourcentages de cas positifs en fonction des doses. La première méthode présente un gros aléa : elle ne tient pas compte des variations de la sensibilité individuelle ; en effet, un animal est capable de répondre à une certaine dose de produit, alors que pour de nombreux autres, cette dose est sans effet. Il nous semble donc difficile de définir une unité-lapin comme l'ont suggéré BRINDEAU, A. HINGLAIS et R. HINGLAIS, c'est-à-dire la plus petite quantité produisant l'apparition en 48 heures d'un point hémorragique chez une lapine de deux kilogs. Nous avons donc adopté la deuxième conception basée sur le principe de TRÉVAN, maintenant classique ; la méthode statistique se base précisément sur les variations de la

sensibilité individuelle. Il est, en effet, possible d'admettre que le pourcentage de cas positifs varie en proportion directe avec les doses administrées, tout au moins pour celles voisines de la dose moyenne. Partant de cette donnée, on peut établir la toxicité ou l'activité d'une substance médicamenteuse sans avoir à déterminer la dose minimum mortelle ou la dose minimum active. Nous allons exposer les conditions et la technique expérimentales de la méthode statistique que nous avons employée.

### 1° CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

a) *Choix des animaux.* — Chez la lapine, on sait que l'ovulation ne se produit qu'après le coït ou l'injection d'extrait gonadotrophique. Pour nos essais, la précaution fondamentale est donc d'expérimenter sur des lapines soigneusement séparées du mâle (pratiquement un mois d'isolement est suffisant), en choisissant des animaux pesant environ 1 kilog. Le même animal peut être utilisé, après trois semaines de repos, une deuxième ou troisième fois, mais pas au-delà. En effet, après des expériences répétées et un temps prolongé, il acquiert une immunité peut-être par l'apparition d'anti-hormones, et une dose plus forte serait nécessaire pour obtenir une réponse positive. Dans tous les cas, avant chaque injection, il est bon de faire une laparotomie exploratrice pour s'assurer de l'état des ovaires.

b) *Mode de traitement.* — Le produit en solution aqueuse est injecté dans la veine marginale de l'oreille sous un volume d'environ 1 cc. Le produit en suspension huileuse est introduit par injection intramusculaire. Les conditions d'injection dans cette méthode sembleraient avoir une importance assez grande, puisque, d'après FRIEDMAN, l'urine de femme enceinte est folliculinisante par voie intraveineuse et lutéinisante par voie péritonéale. Cependant, nous avons obtenu des folli-

cules hémorragiques avec des injections intramusculaires de suspension huileuse d'extrait préhypophysaire, mais avec des résultats moins nets, les follicules étant moins gonflées qu'avec l'extrait placentario-urinaire par voie intraveineuse.

## 2° TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE.

a) *Préparation de l'animal.* — Une précaution indispensable est d'obtenir un champ opératoire parfaitement stérilisé ; il est donc nécessaire, soit de raser la région opératoire, soit, de préférence, de l'épiler (à l'aide d'une pince à épiler). Une fois l'animal fixé sur la table opératoire, on aseptisera la région par badigeonnage à l'alcool iodé.

b) *Anesthésie.* — Au début, nous avons employé l'uréthane par voie intra-péritonéale, mais nous avons difficilement une anesthésie complète, et d'autre part quelques cas mortels nous ont fait rejeter cet hypno-anesthésique. Nous avons donc, par la suite, adopté l'éther en inhalation, qui nous a donné d'excellents résultats. La technique, très simple, consiste à appliquer près des narines de l'animal un petit cornet de carton contenant du coton imbibé d'éther anesthésique du Codex, conservé à l'abri de l'air et de la lumière.

c) *Opération.* — Deux techniques opératoires ont été successivement utilisées par nous : l'une se pratique par voie latérale et l'autre par voie médiane.

*Technique par voie latérale :* L'animal est placé en décubitus latéral. Après avoir soigneusement aseptisé la région opératoire par badigeonnage à l'alcool iodé, on fait une incision longitudinale qui part de la région dorsale externe, entre la deuxième et la troisième vertèbre lombaire pour se diriger vers la partie antérieure du corps ; on incise les muscles abdominaux (grand oblique, petit oblique, transverse) ; on découvre l'ovaire après incision du péritoine. Après examen, on suture

successivement le péritoine et le plan musculaire, enfin on recoud la peau au fil de lin. On recommence la même opération de l'autre côté. Cette méthode permet de trouver facilement les ovaires, mais elle présente l'inconvénient d'être longue, puisqu'elle nécessite deux ouvertures ; de plus, elle peut provoquer la section de filets nerveux.

*Technique par voie médiane :* Les inconvénients de la technique précédente nous ont incité à mettre au point la seconde méthode d'incision par voie médiane qui est beaucoup plus rapide et ne demande qu'une seule ouverture.

L'animal est placé obliquement en position de TRENDELBURG, afin de laisser retomber les anses grêles et le gros intestin et de laisser apparaître les organes pelviens : rein, ovaire surrénal. Après avoir épilé la région ventrale, on fait une incision longitudinale, d'abord de la peau, puis des muscles et du péritoine sur la ligne blanche. On découvre les deux ovaires de chaque côté de la colonne vertébrale. Après examen de ceux-ci, on recoud le péritoine et les muscles au catgut puis la peau au fil de lin.

Quel que soit le mode d'incision choisi, il est important d'opérer aseptiquement, non seulement en aseptisant la peau comme on l'a dit avant et après l'opération à l'aide d'alcool iodé, mais encore en employant des champs et des instruments stériles. Enfin, nous avons constaté qu'après la fermeture, la présence d'un pansement (morceau de gaze stérile appliqué au moyen d'un rectangle de sparadrap) est nécessaire si l'on veut obtenir une cicatrisation rapide sans suppuration et conserver à coup sûr l'animal. L'expérience a montré que ce pansement et le fil s'enlèvent spontanément au bout de quelques jours sans qu'aucun autre soin ne soit nécessaire.

c) *Test utilisé.* — La présence sur l'un des deux ovaires d'un ou plusieurs follicules hémorragiques est

comptée comme réaction positive. Lorsqu'on a fait l'examen sur vingt animaux, on calcule le pourcentage des cas positifs.

Il y a intérêt, lorsqu'on fait un dosage, à employer la méthode croisée, c'est-à-dire à s'arranger pour que les mêmes animaux reçoivent une dose de préparation étalon, et après le délai nécessaire de trois semaines, une dose de préparation inconnue.



## CHAPITRE III

METHODES DE DETERMINATION  
DE L'ACTIVITÉ GONADOTROPHIQUE SPECIFIQUE  
DES PREPARATIONS GLANDULAIRES

Les différentes méthodes ci-dessus décrites, comme nous l'avons dit, manquent de spécificité, puisqu'elles s'appliquent aussi bien aux produits préhypophysaires qu'aux produits placento-urinaires. Etant données la supériorité incontestable de ceux-là sur ceux-ci et l'importance de les déceler spécifiquement, nous avons mis au point deux techniques spécifiques. D'une part, nous avons choisi le rat hypophysectomisé, et comme cette opération est délicate, nous avons adopté un test évitant de sacrifier l'animal : l'apparition d'œstrus chez le rat femelle ; d'autre part, nous avons déterminé la croissance précoce de la crête et des testicules du coq impubère, en vérifiant que ces caractères étaient spécifiques des préparations préhypophysaires.

## I. - Rat femelle hypophysectomisé

## 1° CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

a) *Choix des animaux.* — Il importe d'utiliser des animaux d'un poids et d'un âge moyens. Les rats trop jeunes sont très difficiles à opérer et ceux trop âgés

risquent d'être hyposensibles aux extraits injectés. Le poids optimum des animaux choisis est d'environ 120 grammes.

b) *Mode de traitement.* — Après vérification de l'absence du fonctionnement de l'hypophyse, on fait une seule injection sous-cutanée du produit à expérimenter.

## 2° TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE.

a) *Anesthésie.* — L'animal est anesthésié à l'« avertine » (tribromoéthanol) : 1 cc. par 100 grammes d'une solution à 2 % en injection intrapéritonéale. Si l'anesthésie est insuffisante au début, on fait inhaler un peu d'éther.

b) *Technique opératoire.* — Plusieurs techniques d'hypophysectomie chez le rat ont été publiées par SMITH, KOYAMA, THOMPSON, WEHEFRITZ - GIERHAKE, COLLIP, SELLYE et THOMSON, MOLLER-CHRISTENSEN, GIRAGOSSINTZ, ANSELMINO et PENCHARZ, MORICARD. Nous avons employé une méthode péripharyngée s'inspirant de celle de SMITH.

L'animal est maintenu attaché sur le dos, perpendiculairement à l'opérateur, la tête près de ce dernier.

On fait une incision médiane 2 centimètres en avant de la jugulaire ; on voit alors les deux glandes salivaires que l'on écarte. On incise les muscles de la trachée et on perce dans ce conduit un petit orifice dans lequel on introduit un tube de verre qui sert au passage de l'air. A l'aide d'une petite sonde cannelée, on écarte les muscles et on passe sous la trachée. Dans le passage ainsi créé, on place les deux crochets de l'appareil et on écarte ; on voit alors les deux processus mésoptérygoïdiens que l'on sépare à l'aide d'un petit tampon de coton, on gratte l'os et on voit une ligne bleue et la section sphéno-occipitale.

Le point délicat est celui de la trépanation, l'endroit où elle doit se faire est le point sur lequel la suture

osseuse rencontre la ligne bleue. Plus en avant, on ouvre le sinus veineux, et plus en arrière on ne libère que la moitié postérieure de l'hypophyse. On fait cette trépanation à l'aide d'une petite fraise de dentiste n° 6 que l'on tourne entre les doigts ou que l'on adapte à un tour. Il importe de tourner délicatement vers la fin de l'opération pour ne pas enfoncer la fraise dans la cervelle de l'animal. Après trépanation, on enlève la membrane recouvrant l'hypophyse, on aspire celle-ci à l'aide d'une canule de verre, on comprime un peu pour arrêter la petite hémorragie qui se produit et on recoud le rat avec du fil de lin.

c) *Soins post-opératoires.* — Il est important de tenir les rats bien au chaud (20 à 25°) et il vaut mieux faire une injection d'un analeptique cardiaque (huile camphrée ou solucamphre, 1/10<sup>e</sup> de cc. par rat).

d) *Test.* — Au bout de quelques jours, les rats ont perdu leur vivacité et la rareté de leurs poils leur donne un aspect particulier. Cependant, un tel test n'est pas spécifique. Nous avons donc choisi la présence d'œstrus caractérisée par l'apparition de cellules kératinisées dans le vagin. Quinze jours après l'opération, on vérifie quotidiennement pendant 7 jours l'absence de réaction œstrale : signe de l'hypophysectomie confirmée. On injecte alors le produit en une seule fois. On fait l'examen du frottis vaginal, 24, 48, 72, 96 heures après l'injection. La présence de cellules kératinisées et la disparition des leucocytes sont comptées comme réaction positive.

## II. - Coq impubère

RIDDLE avait montré que chez le pigeon impubère, la croissance du testicule est accélérée avec l'extrait préhypophysaire et que ce caractère spécifique ne s'observe pas avec les préparations placento-urinaires. Nous avons utilisé cette technique chez un

autre oiseau, le coq, plus facile à se procurer et sur lequel on peut quantitativement déterminer la croissance de la crête (test de PÉZARD) et déjà essayée par FURTWANGLER.

## 1° CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

a) *Choix des animaux.* — La race que nous avons choisie est la « White leghorn », employée couramment pour les dosages d'hormone testiculaire, parce que c'est chez elle qu'on trouve le moins de variations individuelles.

FURTWANGLER utilise des animaux âgés de 5 semaines. Nous avons préféré les prendre âgés de 7 semaines parce qu'ils sont plus faciles à se procurer et qu'ils se montrent beaucoup plus résistants. Leur poids est d'environ 450 grammes.

b) *Mode de traitement.* — Le produit est injecté par voie sous-cutanée quotidiennement pendant 6 jours.

## 2° TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE ET TESTS.

Nous avons utilisé deux tests : l'accroissement de poids des testicules et l'accroissement de surface de la crête.

a) *Ablation et pesée des testicules.* — La technique de l'ablation des testicules est d'exécution facile ; l'animal est attaché par les ailes et les pattes à un fil de laiton fort, en forme de U élargi, et l'opération peut se faire très bien sans anesthésie. Après avoir enlevé les plumes dans la région lombaire supérieure, on fait une incision entre les deux dernières côtes, on écarte les muscles et on incise le péritoine. On aperçoit alors un testicule qu'on sépare soigneusement du péritoine, à l'aide d'une aiguille recourbée, et qu'on saisit dans une pince en forme de cuiller. On effectue alors un mouvement de rotation autour de l'organe, de façon à faire

une ligature des vaisseaux testiculaires. On peut alors arracher très facilement le testicule sans qu'il se produise une hémorragie. On recoud les muscles au catgut et la peau au fil de lin. On effectue la même opération de l'autre côté.

Les testicules sont fixés au liquide de Bouin pendant 24 heures ; puis, après essorage entre deux feuilles de papier filtre, pesés à la balance de précision. On rapporte leur poids à 1 kg d'animal.

b) *Mensuration de la crête.* — La technique que nous avons mise au point se rapproche de celles utilisées pour la testostérone et ses dérivés, basées sur le test de Pezard. Nous avons successivement étudié celles-ci et nous résumerons brièvement leurs avantages et leurs inconvénients. Nous avons éliminé rapidement, en raison de ses causes d'erreur multiples, la méthode de GALLAGHER et KOCH qui utilisent un index de surface, produit de la hauteur maximum par la largeur maximum, par mesures directement sur la crête. Nous avons abandonné également la méthode photoplanimétrique pour laquelle nous avons essayé d'adopter un colorimètre à cellule photo-électrique, en raison, non seulement des complications d'appareillage, mais aussi des causes d'erreur dues aux variations d'éclairage et surtout aux moindres mouvements de la crête qu'il est difficile de rendre immobile.

Nous avons préféré effectuer les mensurations sur les clichés de la crête. Deux séries de technique différente ont été réalisées.

Dans une première série, nous avons effectué la photographie sur pellicules que nous avons ultérieurement développées et tirées sur papier. Les animaux étaient toujours maintenus à une distance d'environ 50 cm. sur un fond noir où il était possible de faire figurer les numéros correspondants. Ce dispositif était long et coûteux et présentait en outre une cause d'erreur lorsque la crête de l'animal était inclinée.

Nous avons simplifié la technique de la façon suivante : au lieu d'effectuer dans un premier temps un cliché pour en tirer ensuite une épreuve positive, on se borne à tirer directement sur papier sensible une silhouette de la crête.

On applique exactement la crête sur un papier au bromure d'argent, dans une chambre noire. Il suffit de faire apparaître pendant quelques secondes de la lumière artificielle pour provoquer la réduction du bromure autour de la crête et l'image de celle-ci reste blanche au développement.

Quelle que soit la méthode d'obtention des clichés, il restait à déterminer avec la plus grande précision possible l'accroissement observé sur les crêtes après l'injection d'extrait.

Abandonnant le procédé de la mesure des surfaces par le produit de la hauteur et de la largeur maximum, ou la technique de pesée du papier correspondant à la silhouette, nous avons effectué cette détermination en utilisant un planimètre.

Cet instrument, utilisé classiquement dans les relevés et les épures, sert à mesurer les surfaces d'un plan en parcourant le périmètre. Par lecture sur l'appareil et un calcul très simple, on obtient la surface de chaque crête avant et après les injections et l'accroissement produit par l'extrait.

### Conclusion

Ainsi, plusieurs méthodes de dosage sont proposées :

Une première série comprend des méthodes mesurant l'activité gonadotrophique, quelle que soit l'origine de l'extrait.

1° Les unes, utilisant le rat mâle impubère, consistent à mesurer le pourcentage d'accroissement de poids de différents organes : vésicules séminales et

prostate unies ou séparées, pénis et glandes préputiales, par rapport à des témoins de même souche.

2° Les autres emploient le rat femelle impubère en prenant comme tests l'augmentation de poids de l'utérus et celle des ovaires, toujours par rapport à des témoins de même souche.

3° Enfin, une dernière méthode consiste à déterminer le pourcentage d'ovulations produites sur 20 lapins, 24 heures après l'injection intraveineuse du produit.

Dans la deuxième série, nous avons étudié des méthodes spécifiques des extraits préhypophysaires.

1° La première utilise le rat femelle hypophysectomisé en prenant comme test la réapparition de l'œstrus.

2° Dans la deuxième, nous employons des coqs impubères de 7 semaines et nous prenons comme tests : l'augmentation de poids des testicules par rapport à des témoins et l'accroissement de surface de la crête.



## DEUXIEME PARTIE

### NATURE DES PRODUITS ET RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

A l'aide des diverses techniques décrites ci-dessus, nous avons tenté de doser différentes préparations commerciales de diverses activités. La comparaison des résultats obtenus nous a permis de décider du choix des méthodes. Nous avons utilisé plusieurs produits de diverses origines ; nous rappellerons celles-ci dans un premier chapitre, et dans un deuxième nous indiquerons les résultats obtenus dans nos expériences.

#### CHAPITRE PREMIER

##### ORIGINE ET NATURE DES PREPARATIONS SOUMISES AUX ESSAIS

Nous avons employé dans nos recherches un certain nombre de produits commerciaux d'origines différentes. Les premiers sont des préparations d'origine glandulaire, soit sous forme de suspension huileuse, soit en solution aqueuse ; les seconds sont

d'origine urinaire et comprennent trois échantillons différents : l'un est un mélange très concentré de prolans A et B, les deux autres sont des produits commerciaux dilués.

Après avoir décrit brièvement les principes de préparation de ces deux solutés, tout au moins ceux qu'ont bien voulu nous communiquer les laboratoires qui nous ont adressé ces produits, nous rappellerons quel est leur effet pharmacologique spécifique.

### I. - Préparation des produits préhypophysaires

Le produit le plus actif que nous ayons utilisé est essentiellement un extrait alcalin d'une poudre desséchée à l'acétone. Le principe de la préparation est le suivant : extraction par l'acétone en milieu alcalin, neutralisation, puis précipitation par l'acétone et, après lavage à l'alcool-éther, dessiccation dans le vide. La poudre obtenue sert à faire une émulsion huileuse que l'on met en ampoules. Pour les trois autres produits, nous n'avons pas eu de renseignements sur leur mode d'obtention.

### II. - Préparation des produits placento-urinaires

Le produit urinaire est obtenu par précipitation alcoolique d'urine de femme enceinte. A cet effet, les urines sont soumises d'abord à une concentration par chauffage dans le vide, puis on précipite les prolans par addition de 5 volumes d'alcool à 95°. Après filtration, on lave à l'alcool à 95°, puis on redissout le précipité dans l'alcool dilué et le purifie par une nouvelle précipitation à l'alcool fort. Enfin, on dessèche dans le vide et on l'additionne de saccharose pour sa conservation.

Rappelons brièvement les propriétés pharmacodynamiques communes et différentielles de ces deux sortes de produits. Les préparations préhypophysaires comme les préparations placento-urinaires agissent sur les glandes sexuelles pour produire leur accroissement et amener une hypersécrétion qui se traduit par la maturité sexuelle avec une hypertrophie des organes secondaires (utérus, vagin chez la femelle ; vésicules séminales, prostate, glandes préputiales chez le mâle). Les deux produits se distinguent l'un de l'autre, d'une part par leur action sur l'animal hypophysectomisé, sur les testicules d'oiseaux, qui ne s'observe qu'avec le produit préhypophysaire et non placento-urinaire ; d'autre part par l'accroissement des ovaires de la souris et de la rate qui est total pour les produits glandulaires et seulement partiel avec les extraits placento-urinaires, d'où le nom de « pituitary like hormone » réservé à ces derniers.



## CHAPITRE II

### RESULTATS EXPERIMENTAUX CHEZ LE RAT

Ces résultats ont été obtenus, d'une part sur le rat mâle en étudiant les divers tests envisagés tels que les vésicules séminales et la prostate, puis d'autres glandes telles que les glandes préputiales et le pénis, d'autre part sur le rat femelle où nous avons pris le test de l'utérus et pour certains produits l'ovaire. Enfin nous exposerons ceux obtenus par la méthode avec la lapine et ceux pour les méthodes spécifiques.

#### I. - Rat mâle impubère

Nous avons groupé dans une série de tableaux les expériences que nous avons effectuées : en premier lieu sur les extraits glandulaires, en second lieu sur les extraits placentario-urinaires.

Dans chacun des tableaux figurent :

- 1° Le numéro de la souche à laquelle appartiennent les animaux ;
- 2° La quantité d'extrait injecté ;
- 3° Les poids des différents organes calculés en mgr. pour 100 gr. d'animal ;
- 4° Le poids moyen des organes considérés ;
- 5° Le pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins.

### 1° EXTRAITS GLANDULAIRES.

Les expériences les plus importantes ont porté sur l'extrait que nous avons appelé  $H_1$ . Les tableaux qui vont suivre montrent successivement les poids des vésicules séminales et prostate réunies (tableau I), le poids des deux organes séparés (tableaux II et III) et les poids des pénis et des glandes préputiales (tableaux IV et V), puis nous exposerons les résultats obtenus avec les produits commerciaux  $H_2$  et  $H_3$ .

*Extrait  $H_1$  :*

a) *Augmentation de poids de l'ensemble prostate + vésicules séminales.* — Le tableau I nous montre que le pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins est de 1,5, 8, 18, 20, 25 pour les doses correspondantes 0 cc. 70, 1 cc. 40, 1 cc. 75, 2 cc. 10, 2 cc. 45 injectées en 7 jours.

b) *Augmentation de poids de la prostate et des vésicules séminales pesées séparément.* — Le poids des vésicules séminales est indiqué dans le tableau II et le poids des prostates est réparti dans le tableau III. La somme des poids de ces deux organes est évidemment égale aux taux correspondants du tableau I.

D'après ces deux tableaux, nous voyons que pour les doses de 0 cc. 70 et de 1 cc. 40, il n'y a aucun accroissement des vésicules séminales, mais un très léger accroissement de la prostate : 16 % pour 0 cc. 70, 13 % pour 1 cc. 40, ce que l'on peut considérer comme sensiblement égal. L'accroissement est plus marqué aux doses supérieures : 11 %, 17 % et 29 % pour les vésicules, 13 %, 22 % et 24 % pour la prostate avec les doses respectives de 1 cc. 75, 2 cc. 10, 2 cc. 45.

TABLEAU I

ACTION DE L'EXTRAIT HYPOPHYSAIRE  $H_1$  SUR L'ENSEMBLE  
VESICULES SEMINALES + PROSTATE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 cc. 70 | 1 cc. 40 | 1 cc. 75 | 2 cc. 10 | 2 cc. 45 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 5                                                             | 37,5         | 27,5     | 36       | —        | —        | —        |
| 6                                                             | 16           | 38       | 39       | —        | 47,5     | —        |
| 9                                                             | 24           | —        | 35,5     | —        | 34,5     | —        |
| 11                                                            | 29,5         | 30       | —        | —        | 37,5     | —        |
| 13                                                            | 26,5         | 38       | 41       | —        | 51       | —        |
| 13                                                            | —            | 40,5     | 28       | —        | 38,5     | —        |
| 21                                                            | 50           | —        | 39       | 34,5     | 32,5     | 44,5     |
| 22                                                            | 41,5         | —        | 33,5     | 43,5     | 39,5     | 43       |
| 23                                                            | 31,5         | —        | 30,5     | 35       | 41       | 44       |
| 24                                                            | 41           | —        | 41       | 45,5     | 52       | 37       |
| 24                                                            | —            | —        | —        | —        | —        | 45,5     |
| 33                                                            | 40,5         | —        | 30,5     | 31       | 33       | —        |
| 34                                                            | 44           | —        | 37       | 40       | 41,5     | 44,5     |
| 37                                                            | 33           | —        | —        | 38       | —        | —        |
| 38                                                            | 28           | —        | 36       | 40       | 51       | —        |
| 39                                                            | 34           | —        | 38       | 43       | 44,5     | —        |
| 40                                                            | 31           | —        | —        | —        | 39       | —        |
| 45                                                            | 45           | —        | 52       | 59       | —        | —        |
| 45                                                            | —            | —        | 39       | —        | —        | —        |
| 47                                                            | 40           | —        | 48       | —        | —        | —        |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 34,5         | 35       | 37,5     | 41       | 41,5     | 43       |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 1,5      | 8        | 18       | 20       | 25       |

TABLEAU II

ACTION DU PRODUIT  $H_1$  SUR LES VESICULES SEMINALES  
DU RAT MALE IMPUBERE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 cc. 70 | 1 cc. 40 | 1 cc. 75 | 2 cc. 10 | 2 cc. 45 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 5                                                             | 17           | 12       | 15       | —        | —        | —        |
| 6                                                             | 7            | 18       | 11,5     | —        | —        | —        |
| 9                                                             | 12           | —        | 13       | —        | 16       | —        |
| 11                                                            | 10,5         | 14       | —        | —        | 10       | —        |
| 13                                                            | 10,5         | 16       | 18       | —        | 25       | —        |
| 13                                                            | —            | 19       | 11       | —        | 16       | —        |
| 21                                                            | 18           | —        | 18       | 15       | 13       | 20,5     |
| 22                                                            | 31           | —        | 15,5     | 19,5     | 22       | 25       |
| 23                                                            | 18           | —        | 16       | 15,5     | 16,5     | 20       |
| 24                                                            | 20           | —        | 23,5     | 15       | 22,5     | 16,5     |
| 24                                                            | —            | —        | —        | —        | —        | 21,5     |
| 33                                                            | 19           | —        | 13,5     | 15       | 15,5     | —        |
| 34                                                            | 21           | —        | 12,5     | 23       | 20,5     | 29       |
| 37                                                            | 14           | —        | —        | 18,5     | —        | —        |
| 38                                                            | 10,5         | —        | 15,5     | 14,5     | 23       | —        |
| 39                                                            | 17           | —        | 19       | 23       | 21,5     | —        |
| 40                                                            | 14,5         | —        | —        | —        | 37,5     | —        |
| 45                                                            | 25           | —        | 24       | 31       | —        | —        |
| 45                                                            | —            | —        | —        | 24       | —        | —        |
| 47                                                            | 23           | —        | 22       | —        | —        | —        |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 17           | 16       | 16,5     | 19       | 20       | 22       |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0        | 0        | 11       | 17       | 29       |

TABLEAU III

ACTION DE L'EXTRAIT H<sub>1</sub> SUR LA PROSTATE  
DU RAT MALE IMPUBÈRE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 cc. 70 | 1 cc. 40 | 1 cc. 75 | 2 cc. 10 | 2 cc. 45 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 5                                                             | 20           | 16       | 21,5     | —        | —        | —        |
| 6                                                             | 8,5          | 20       | 27       | —        | 24,5     | —        |
| 9                                                             | 11,5         | —        | 22,5     | —        | 19       | —        |
| 11                                                            | 19           | 16       | —        | —        | 27,5     | —        |
| 13                                                            | 16           | 22,5     | 23       | —        | 28,5     | —        |
| 13                                                            | —            | 31       | 16       | —        | 22,5     | —        |
| 21                                                            | 31           | —        | 21,5     | 19,5     | 19       | 24       |
| 22                                                            | 10,5         | —        | 18       | 24       | 17       | 18       |
| 23                                                            | 13           | —        | 15       | 19,5     | 24,5     | 23,5     |
| 24                                                            | 20           | —        | 17       | 25,5     | 29       | 20,5     |
| 24                                                            | —            | —        | —        | —        | —        | 24       |
| 33                                                            | 21           | —        | 17       | 16       | 18       | —        |
| 34                                                            | 29           | —        | 18,5     | 16,5     | 21       | 24       |
| 37                                                            | 19           | —        | —        | 19       | —        | —        |
| 38                                                            | 17,5         | —        | 21       | 26       | 28       | —        |
| 39                                                            | 17           | —        | 19       | 19,5     | 23       | —        |
| 40                                                            | 16,5         | —        | —        | —        | 7,5      | —        |
| 45                                                            | 19           | —        | 27       | 27       | —        | —        |
| 45                                                            | —            | —        | —        | 15       | —        | —        |
| 47                                                            | 18           | —        | 25       | —        | —        | —        |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 18           | 21       | 20,5     | 20,5     | 22       | 22,5     |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 16       | 13       | 13       | 22       | 24       |

TABLEAU IV

ACTION DE L'EXTRAIT H<sub>1</sub> SUR LE PENIS  
DU RAT MALE IMPUBÈRE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 cc. 70 | 1 cc. 40 | 1 cc. 75 | 2 cc. 10 | 2 cc. 45 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 5                                                             | 40           | 31       | 46       | —        | —        | —        |
| 6                                                             | 20           | 45       | 40       | —        | 56       | —        |
| 9                                                             | 30           | —        | 46       | —        | 46       | —        |
| 11                                                            | 27           | 40       | —        | —        | 57       | —        |
| 13                                                            | 30           | 38       | 43       | —        | 56       | —        |
| 13                                                            | —            | 37       | 32       | —        | 47       | —        |
| 21                                                            | 98           | —        | 82       | 99       | 81       | 100      |
| 22                                                            | 105          | —        | 80       | 82       | 68       | 96       |
| 23                                                            | 98           | —        | 87       | 82       | 96       | 98       |
| 24                                                            | 83           | —        | 82       | 82       | 85       | 76       |
| 24                                                            | —            | —        | —        | —        | —        | 92       |
| 33                                                            | 93           | —        | 79       | 92       | 84       | —        |
| 34                                                            | 95           | —        | 123      | 95       | 85       | 72       |
| 37                                                            | 81           | —        | —        | 93       | —        | —        |
| 38                                                            | 77           | —        | 96       | 105      | 106      | —        |
| 39                                                            | 85           | —        | 79       | 100      | 84       | —        |
| 40                                                            | 95           | —        | —        | —        | 130      | —        |
| 45                                                            | 77           | —        | 75       | 64       | —        | —        |
| 47                                                            | 12           | —        | 70       | —        | —        | —        |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 67           | 38       | 70       | 89,5     | 77       | 89       |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0        | 4        | 33       | 29       | 32       |

TABLEAU V

ACTION DE L'EXTRAIT  $H_1$  SUR LES GLANDES PREPUTIALES  
DU RAT MALE IMPUBERE

| N° de la souche                                    | Témoins | 1 cc. 40 | 1 cc. 75 | 2 cc. 10 | 2 cc. 45 |
|----------------------------------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|
| 21                                                 | 58      | 65       | 64,5     | 71,5     | 102,5    |
| 22                                                 | 64      | 82       | 87,5     | 66       | 77       |
| 23                                                 | 39      | 76       | 74       | 88       | 75,5     |
| 24                                                 | 68      | 112      | 86,5     | 80       | 65       |
| 33                                                 | 45      | 32,5     | 43       | 48       | 92       |
| 34                                                 | 64      | 64       | 82       | 101      | 88       |
| 37                                                 | 66      | —        | 87       | —        | —        |
| 38                                                 | 58,5    | 83       | 87       | 87,5     | —        |
| 39                                                 | 71      | 67       | 67       | 71       | —        |
| 40                                                 | 55      | —        | —        | 107      | —        |
| Poids moyen des org.                               | 58      | 72       | 75       | 80       | 83       |
| Pourcentage d'accroissement par rapp. aux témoins. |         | 25       | 29       | 38       | 43       |

TABLEAU VI

ACTION DES EXTRAITS  $H_2$  ET  $H_3$  SUR LE POIDS DES VESICULES  
ET DE LA PROSTATE PESÉES ENSEMBLE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 1 cc.,<br>40 $H_2$ | 2 cc.<br>80 $H_2$ | 5 cc.,<br>60 $H_2$ | 11 cc.,<br>20 $H_2$ | 4 cc.,<br>20 $H_3$ |
|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 1                                                             | 33           | 43                 | 41                | —                  | —                   | —                  |
| 1                                                             | —            | 34                 | 28                | —                  | —                   | —                  |
| 2                                                             | 27           | 30                 | 40                | —                  | —                   | —                  |
| 2                                                             | —            | 16                 | 41                | —                  | —                   | —                  |
| 3                                                             | 28,5         | —                  | —                 | 26                 | 16                  | —                  |
| 3                                                             | —            | —                  | —                 | 25                 | 26                  | —                  |
| 4                                                             | 34,5         | —                  | —                 | 82                 | 26                  | —                  |
| 4                                                             | 47           | —                  | —                 | 21                 | —                   | —                  |
| 5                                                             | 21           | —                  | —                 | 20                 | 29                  | —                  |
| 5                                                             | 31           | —                  | —                 | 29                 | 29                  | —                  |
| 44                                                            | —            | —                  | —                 | —                  | —                   | 40                 |
| 45                                                            | 45           | —                  | —                 | —                  | —                   | 40                 |
| 46                                                            | 27           | —                  | —                 | —                  | —                   | 29                 |
| 47                                                            | 40           | —                  | —                 | —                  | —                   | 66                 |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 33,5         | 30                 | 37                | 34                 | 25                  | 43                 |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0                  | 9                 | 1,5                | 0                   | 28                 |

TABLEAU VII

ACTION DES EXTRAITS  $H_2$  ET  $H_3$   
SUR LES VESICULES SEMINALES SEULES

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 1 cc.,<br>40 $H_2$ | 2 cc.,<br>80 $H_2$ | 5 cc.,<br>60 $H_2$ | 11 cc.,<br>20 $H_2$ | 4 cc.,<br>20 $H_3$ |
|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 1                                                             | 14           | 10                 | 15                 | —                  | —                   | —                  |
| 1                                                             | —            | 20                 | 8                  | —                  | —                   | —                  |
| 2                                                             | 16           | 9                  | 12                 | —                  | —                   | —                  |
| 2                                                             | —            | 9                  | 11                 | —                  | —                   | —                  |
| 3                                                             | 25           | —                  | —                  | 8,5                | 7,5                 | —                  |
| 3                                                             | —            | —                  | —                  | 8                  | 11                  | —                  |
| 4                                                             | 21           | —                  | —                  | 8,5                | 7                   | —                  |
| 4                                                             | 29           | —                  | —                  | 3                  | —                   | —                  |
| 5                                                             | 10           | —                  | —                  | 13                 | 3                   | —                  |
| 5                                                             | 15           | —                  | —                  | 8,5                | 11                  | —                  |
| 44                                                            | —            | —                  | —                  | —                  | —                   | 18                 |
| 45                                                            | 25           | —                  | —                  | —                  | —                   | 18                 |
| 46                                                            | 19           | —                  | —                  | —                  | —                   | 25                 |
| 47                                                            | 23           | —                  | —                  | —                  | —                   | 28                 |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 19,5         | 12                 | 11,5               | 8,5                | 7,9                 | 22                 |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0                  | 0                  | 0                  | 0                   | 12                 |

TABLEAU VIII

ACTION DES EXTRAITS  $H_2$  ET  $H_3$  SUR LA PROSTATE SEULE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 1 cc.,<br>40 $H_2$ | 2 cc.,<br>80 $H_2$ | 5 cc.,<br>60 $H_2$ | 11 cc.,<br>20 $H_2$ | 4 cc.,<br>20 $H_3$ |
|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 1                                                             | 19           | 33                 | 26                 | —                  | —                   | —                  |
| 1                                                             | —            | 14                 | 20                 | —                  | —                   | —                  |
| 2                                                             | 11           | 29                 | 23                 | —                  | —                   | —                  |
| 2                                                             | —            | 7                  | 30                 | —                  | —                   | —                  |
| 3                                                             | 19           | —                  | —                  | 18,5               | 8,5                 | —                  |
| 3                                                             | —            | —                  | —                  | 17,5               | 16                  | —                  |
| 4                                                             | 13           | —                  | —                  | 72                 | 19                  | —                  |
| 4                                                             | 18           | —                  | —                  | 18,5               | —                   | —                  |
| 5                                                             | 10           | —                  | —                  | 7                  | 21                  | —                  |
| 5                                                             | 16           | —                  | —                  | 20                 | 18                  | —                  |
| 44                                                            | —            | —                  | —                  | —                  | —                   | 22                 |
| 45                                                            | 19           | —                  | —                  | —                  | —                   | 22                 |
| 46                                                            | 7            | —                  | —                  | —                  | —                   | 4                  |
| 47                                                            | 13           | —                  | —                  | —                  | —                   | 43                 |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 14,5         | 21                 | 25                 | 25,3               | 16                  | 22                 |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 44                 | 72                 | 74                 | 10                  | 51                 |

TABLEAU IX

ACTION DES EXTRAITS  $H_2$  ET  $H_3$  SUR LE PENIS  
DU RAT MALE IMPUBERE

| N°<br>de la<br>souche                          | Té-<br>moins | 1 cc.,<br>40 $H_2$ | 2 cc.,<br>80 $H_2$ | 5 cc.,<br>60 $H_2$ | 11 cc.,<br>20 $H_2$ | 4 cc.,<br>20 $H_3$ |
|------------------------------------------------|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 1                                              | 15           | 15                 | 13                 | —                  | —                   | —                  |
| 1                                              | —            | 13                 | 19                 | —                  | —                   | —                  |
| 2                                              | 10           | 10                 | 12                 | —                  | —                   | —                  |
| 2                                              | —            | 9                  | 11                 | —                  | —                   | —                  |
| 3                                              | 28           | —                  | —                  | 33                 | 30                  | —                  |
| 3                                              | —            | —                  | —                  | —                  | —                   | —                  |
| 4                                              | 33           | —                  | —                  | 48                 | 39                  | —                  |
| 4                                              | 29           | —                  | —                  | 25                 | —                   | —                  |
| 5                                              | 38           | —                  | —                  | 40                 | 46                  | —                  |
| 5                                              | 55           | —                  | —                  | 33                 | 39                  | —                  |
| 44                                             | —            | —                  | —                  | —                  | —                   | 75                 |
| 45                                             | 77           | —                  | —                  | —                  | —                   | 68                 |
| 46                                             | 25           | —                  | —                  | —                  | —                   | 53                 |
| 47                                             | 72           | —                  | —                  | —                  | —                   | 105                |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes               | 38           | 12                 | 14                 | 36                 | 38                  | 75                 |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>des organes. |              | 0                  | 0                  | 0                  | 0                   | 97                 |

c) *Augmentation de poids du pénis et des glandes préputiales.* — Le tableau IV nous montre les changements de poids du pénis suivant les doses de 0 cc. 70, 1 cc. 40, 1 cc. 75, 2 cc. 10, 2 cc. 45. On voit que l'accroissement qui augmente assez vite de 1 cc. 40 à 1 cc. 75 est sensiblement le même pour les doses allant de 1 cc. 75 à 2 cc. 45.

Enfin, dans le tableau V, nous envisageons l'augmentation de poids des glandes préputiales ; on voit que celle-ci est plus importante que pour les tests précédents, puisque de 25 % pour 1 cc. 40, de 29 % pour 1 cc. 75, de 38 % pour 2 cc. 10 et de 43 % pour 2 cc. 45.

#### *Extraits $H_2$ et $H_3$ :*

Comme précédemment, nous envisageons l'action sur chaque organe, mais nous réunirons les deux extraits dans le même tableau. Le tableau VI montre les vésicules séminales et la prostate pesées ensemble, les tableaux VII et VIII ces deux organes séparés et le tableau IX le pénis.

#### 2° EXTRAITS PLACENTO-URINAIRES.

Ici nos expériences ont été conduites surtout avec les deux extraits  $P_1$  et  $P_2$ . Nous ne donnerons dans ce chapitre que les résultats obtenus avec  $P_1$  ; ceux de  $P_2$  seront plus loin dans le chapitre relatif à l'étalon.

Nous allons étudier dans des tableaux successifs l'action de cet extrait sur les divers organes du rat mâle : vésicules séminales, prostate, glandes préputiales et pénis.

a) *Augmentation de poids de l'ensemble prostate + vésicules séminales.* — Ces résultats font l'objet

du tableau X où les doses d'extrait sont indiquées en milligrammes.

On voit qu'ici, avec une différence de dose assez importante, les pourcentages d'accroissement s'élèvent aussi fortement de 13 % pour 5 mgr. 74 à 267 % pour 143 mgr. 5.

b) *Augmentation de poids de la prostate et des vésicules séminales.* — Les résultats obtenus avec l'extrait P<sub>1</sub> sont consignés dans le tableau XI pour les vésicules séminales et dans le tableau XII pour la prostate. On voit, d'après ces deux tableaux, que l'accroissement des vésicules séminales est plus régulier et plus accusé que celui de la prostate.

c) *Augmentation des glandes préputiales et du pénis.* — L'augmentation de poids de chacun de ces organes est indiquée dans le tableau XIII pour le pénis et dans le tableau XIV pour les glandes préputiales. D'après le tableau XIV, on voit que les glandes préputiales ne sont pas beaucoup augmentées par rapport aux vésicules séminales et à la prostate, alors qu'avec l'extrait H<sub>1</sub> vu précédemment, leur augmentation était plus grande que celle de ces deux glandes. Le pourcentage d'accroissement correspondant à 28 mgr. 7 n'est que 118 %, alors qu'il est de 25 % pour les vésicules séminales, de 100 % pour la prostate et de 267 % pour les deux glandes pesées ensemble.

## II. - Rat femelle impubère

Comme pour le rat mâle impubère, nous divisons les résultats en deux parties suivant l'origine de l'extrait : d'abord les extraits glandulaires, puis les extraits placento-urinaires.

## 1° EXTRAITS GLANDULAIRES.

Ici encore, la plupart de nos expériences ont porté sur l'extrait  $H_1$ . Nous commencerons donc par celui-ci et nous verrons ensuite les résultats obtenus avec les extraits commerciaux  $H_2$  et  $H_3$ .

a) *Extrait  $H_1$ .* — Les expériences ont surtout porté sur l'accroissement du poids de l'utérus. Le tableau XV résume les résultats obtenus. On voit que l'accroissement est assez grand pour des doses très peu différentes. C'est ainsi qu'on a 12 % d'accroissement pour une dose de 0 cc. 70 et que cet accroissement est déjà de 115 % à la dose de 2 cc. 60.

b) *Extraits  $H_2$  et  $H_3$ .* — Comme pour les mâles, nous réunirons les résultats concernant ces deux extraits dans le même tableau XVI. L'extrait  $H_2$  a donc ici une légère activité, bien qu'une dose assez forte : 11 cc. 20, ne donne qu'un faible pourcentage d'accroissement : 29 %. Par contre, l'extrait  $H_3$  est totalement inactif à la dose employée.

## 2° EXTRAITS PLACENTO-URINAIRES.

Nos essais ont surtout porté sur les deux extraits  $P_1$  et  $P_2$ . Comme pour les mâles, nous réserverons les résultats au sujet de  $P_2$  pour le chapitre traitant l'étalon.

Par contre, nous indiquerons les quelques résultats concernant l'extrait  $P_3$ .

TABLEAU X

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>1</sub> SUR L'ENSEMBLE  
PROSTATE + VESICULES SEMINALES

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 mg.<br>574 | 5 mg.<br>74 | 7 mg.<br>175 | 14 mg.<br>35 | 28 mg.<br>7 | 143 mg<br>5 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
| 43                                                            | 40           | —            | —           | —            | 54           | 99,5        | —           |
| 43                                                            | —            | —            | —           | —            | 45           | 69          | —           |
| 44                                                            | 28           | —            | —           | —            | 40,5         | 57,5        | —           |
| 44                                                            | —            | —            | —           | —            | 31           | —           | —           |
| 45                                                            | 36           | —            | —           | —            | —            | 78          | —           |
| 46                                                            | 27           | —            | —           | —            | —            | —           | 140         |
| 46                                                            | —            | —            | —           | —            | —            | —           | 88          |
| 90                                                            | 25           | —            | 38          | —            | —            | —           | —           |
| 90                                                            | 35           | —            | 40          | —            | —            | —           | —           |
| 90                                                            | —            | —            | 42          | —            | —            | —           | —           |
| 91                                                            | 24           | 20           | —           | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | 20           | —            | 31          | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | 17           | —            | 38          | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | —            | —            | 16          | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | —            | —            | 44          | —            | —            | —           | —           |
| 94                                                            | 34           | —            | 37          | —            | —            | —           | —           |
| 96                                                            | 45           | —            | —           | 62           | —            | —           | —           |
| 96                                                            | 40           | —            | —           | 61           | —            | —           | —           |
| 97                                                            | 30           | —            | —           | 38           | —            | —           | —           |
| 98                                                            | 36           | —            | —           | 43           | —            | —           | —           |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 31           | 20           | 35          | 51           | 42           | 76          | 114         |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0            | 13          | 64           | 35           | 145         | 267         |

TABLEAU XI

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>1</sub> SUR LES VESICULES SEMMINALES SEULES

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 mg.<br>574 | 5 mg.<br>74 | 7 mg.<br>175 | 14 mg.<br>35 | 28 mg.<br>7 | 143 mg.<br>5 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
| 43                                                            | 13           | —            | —           | —            | 36           | 50,5        | —            |
| 43                                                            | —            | —            | —           | —            | 13           | 31,5        | —            |
| 44                                                            | 10           | —            | —           | —            | 19,5         | 26,5        | —            |
| 44                                                            | —            | —            | —           | —            | 15           | —           | —            |
| 45                                                            | 8,5          | —            | —           | —            | —            | 41          | —            |
| 46                                                            | 19           | —            | —           | —            | —            | —           | 71           |
| 46                                                            | —            | —            | —           | —            | —            | —           | 55           |
| 90                                                            | 10           | —            | —           | —            | —            | —           | —            |
| 90                                                            | 12,5         | —            | 10          | —            | —            | —           | —            |
| 90                                                            | —            | —            | 15          | —            | —            | —           | —            |
| 91                                                            | 6            | 6            | —           | —            | —            | —           | —            |
| 93                                                            | 7            | —            | 5           | —            | —            | —           | —            |
| 93                                                            | 6            | —            | 10          | —            | —            | —           | —            |
| 93                                                            | —            | —            | 10          | —            | —            | —           | —            |
| 93                                                            | —            | —            | 11,5        | —            | —            | —           | —            |
| 94                                                            | 10           | —            | 11          | —            | —            | —           | —            |
| 96                                                            | 20           | —            | —           | 19           | —            | —           | —            |
| 96                                                            | 10           | —            | —           | 16           | —            | —           | —            |
| 97                                                            | 10           | —            | —           | 8            | —            | —           | —            |
| 98                                                            | 9            | —            | —           | 12           | —            | —           | —            |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 10,5         | 6            | 12          | 13           | 21           | 37          | 63           |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0            | 14          | 23           | 100          | 252         | 500          |

TABLEAU XII

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>1</sub> SUR LA PROSTATE  
DU RAT MALE IMPUBERE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 mg.<br>574 | 5 mg.<br>74 | 7 mg.<br>175 | 14 mg.<br>35 | 28 mg.<br>7 | 43 mg.<br>5 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
| 43                                                            | 23           | —            | —           | —            | 18           | 49          | —           |
| 43                                                            | —            | —            | —           | —            | 22           | 37,5        | —           |
| 44                                                            | 16           | —            | —           | —            | 21           | 31          | —           |
| 44                                                            | —            | —            | —           | —            | 16           | —           | —           |
| 45                                                            | 22           | —            | —           | —            | —            | 37          | —           |
| 46                                                            | 8            | —            | —           | —            | —            | —           | —           |
| 46                                                            | —            | —            | —           | —            | —            | —           | —           |
| 90                                                            | 15           | —            | 26          | —            | —            | —           | —           |
| 90                                                            | 22,5         | —            | 30          | —            | —            | —           | —           |
| 90                                                            | —            | —            | 27          | —            | —            | —           | 78          |
| 91                                                            | 18           | 14           | —           | —            | —            | —           | 33          |
| 93                                                            | 13           | —            | 26          | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | 11           | —            | 27          | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | —            | —            | 34          | —            | —            | —           | —           |
| 93                                                            | —            | —            | 22,5        | —            | —            | —           | —           |
| 94                                                            | 24           | —            | 26          | —            | —            | —           | —           |
| 96                                                            | 25           | —            | —           | 43           | —            | —           | —           |
| 96                                                            | 30           | —            | —           | 45           | —            | —           | —           |
| 97                                                            | 20           | —            | —           | 30           | —            | —           | —           |
| 98                                                            | 27           | —            | —           | 31           | —            | —           | —           |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 19,5         | 14           | 28,5        | 37           | 15           | 39          | 55          |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 0            | 46          | 89           | 0            | 100         | 182         |

TABLEAU XIII

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>8</sub> SUR LE PENIS  
DU RAT MALE IMPUBERE

| N° de la souche                                      | Témoins | 14 mg. 35 | 28 mg. 7 | 143 mg. 5 |
|------------------------------------------------------|---------|-----------|----------|-----------|
| 43                                                   | 76      | 90        | 106      | —         |
| 43                                                   | —       | 67        | 102      | —         |
| 44                                                   | 35      | 72        | 71       | —         |
| 44                                                   | —       | 69        | —        | —         |
| 45                                                   | 73      | —         | 115      | —         |
| 46                                                   | 25      | —         | —        | 148       |
| 46                                                   | —       | —         | —        | 140       |
| Poids moy. des organes                               | 52      | 74        | 98       | 144       |
| Pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins. |         | 42        | 88       | 176       |

TABLEAU XIV

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>1</sub> SUR LES GLANDES PREPUTIALES  
DU RAT MALE IMPUBERE

| N° de la souche                                      | Témoins | 14 mg. 35 | 28 mg. 7 |
|------------------------------------------------------|---------|-----------|----------|
| 43                                                   | 39      | 43        | 67       |
| 43                                                   | —       | 26        | 79       |
| 44                                                   | 29      | 37        | 32       |
| 44                                                   | —       | 43        | —        |
| 45                                                   | 43      | —         | 67       |
| Poids moyen des organes.                             | 37      | 38        | 81       |
| Pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins. |         | 25        | 118      |

TABLEAU XV

ACTION DE L'EXTRAIT  $H_1$  SUR L'UTERUS  
DU RAT FEMELLE IMPUBERE

| N°<br>de la<br>souche                                         | Té-<br>moins | 0 cc. 70 | 1 cc. 40 | 1 cc. 75 | 2 cc. 10 | 2 cc. 60 |
|---------------------------------------------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 4                                                             | 48           | 53       | 89       | —        | 156      | —        |
| 5                                                             | 54           | —        | 53       | —        | —        | 114      |
| 6                                                             | 62           | 53       | —        | —        | 149      | 138      |
| 7                                                             | 52           | 60       | 62       | —        | 73       | 86       |
| 10                                                            | 52           | 45       | 55       | —        | 62       | 78,5     |
| 11                                                            | 60           | 56       | 73       | —        | 95       | 104      |
| 20                                                            | 51           | —        | 57,5     | 58,5     | 88       | —        |
| 21                                                            | 54           | —        | 68       | 106      | 76       | —        |
| 22                                                            | 72           | —        | 56       | —        | —        | —        |
| 27                                                            | 45           | —        | 59       | 82       | 125,5    | —        |
| 27                                                            | —            | —        | —        | 71       | 97       | —        |
| 33                                                            | 40           | —        | 58       | 44       | 89       | —        |
| 34                                                            | 49           | —        | 49       | 73       | 86       | —        |
| 37                                                            | 38           | —        | —        | 63       | —        | —        |
| 39                                                            | 45           | —        | 54       | 61       | 70       | —        |
| 40                                                            | 38           | —        | 53       | —        | 106,5    | —        |
| 44                                                            | 57           | —        | 58       | 52       | —        | —        |
| 46                                                            | 36           | —        | 47       | —        | —        | —        |
| 47                                                            | 38           | —        | 64       | —        | —        | —        |
| 53                                                            | 39           | —        | —        | 107      | 40       | —        |
| 54                                                            | 40           | —        | —        | 57       | 31       | —        |
| 54                                                            | —            | —        | —        | —        | 133      | —        |
| 55                                                            | 23           | —        | —        | 73       | —        | —        |
| Poids<br>moyen<br>des<br>organes                              | 47,5         | 53,5     | 59       | 70       | 92       | 102      |
| Pourcentage<br>d'accroissement<br>par rapport aux<br>témoins. |              | 12       | 24       | 47       | 93       | 115      |

TABLEAU XVI

ACTION DES EXTRAITS  $H_2$  ET  $H_3$  SUR L'UTERUS  
DU RAT FEMELLE IMPUBERE

| N° de la souche                                      | Témoins | 5 cc. 60 $H_2$ | 11 cc. 20 $H_2$ | 4 cc. 20 $H_3$ |
|------------------------------------------------------|---------|----------------|-----------------|----------------|
| 1                                                    | 55      | 56             | 48              | —              |
| 1                                                    | —       | 77             | 36              | —              |
| 2                                                    | 39      | 50             | 121             | —              |
| 2                                                    | 60      | 48             | 53              | —              |
| 3                                                    | 39      | 73             | 48              | —              |
| 44                                                   | 67      | —              | —               | 44             |
| 46                                                   | 35      | —              | —               | 33             |
| 47                                                   | 38      | —              | —               | 55             |
| Poids moy. des organes                               | 47      | 60             | 61              | 44             |
| Pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins. |         | 27             | 29              | 0              |

A. - *Extrait  $P_1$* . — Les résultats que nous avons obtenus ont porté à la fois sur l'ovaire et sur l'utérus. Dans le tableau XVII sont les résultats concernant l'utérus et dans le tableau XVIII ceux concernant l'ovaire.

B. - *Extrait  $P_3$* . — Nos recherches n'ont porté que sur l'utérus et les résultats sont consignés dans le tableau XIX. Comme nous ne voulions avoir qu'une idée approximative de l'activité de ce produit, nous n'avons pris que deux animaux. Nous voyons qu'elle est assez grande puisque nous avons déjà un accroissement de 110 % avec 0 mmgr. 70.

TABLEAU XVII

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>1</sub> SUR L'UTERUS  
DU RAT FEMELLE IMPUBERE

| N°<br>de la<br>sou-<br>che                                         | Té-<br>moins | 0 mg.<br>574 | 1 mg.<br>435 | 2 mg.<br>87 | 5 mg.<br>74 | 14 mg.<br>35 | 28 mg.<br>7 | 86 mg.<br>1 |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| 44                                                                 | 67           | —            | —            | —           | —           | —            | —           | 309         |
| 46                                                                 | 35           | —            | —            | —           | —           | —            | —           | 148         |
| 47                                                                 | 38           | —            | —            | —           | —           | —            | —           | 343         |
| 48                                                                 | 52           | —            | —            | —           | —           | 213          | 363         | —           |
| 49                                                                 | 58           | —            | —            | —           | —           | —            | 162         | —           |
| 50                                                                 | 39           | —            | —            | —           | —           | 337          | 270         | —           |
| 51                                                                 | 32           | —            | —            | —           | —           | 272          | —           | —           |
| 52                                                                 | 42           | —            | —            | —           | —           | 193          | 275         | —           |
| 90                                                                 | 25           | —            | —            | —           | 273         | —            | —           | —           |
| 90                                                                 | —            | —            | —            | —           | 165         | —            | —           | —           |
| 91                                                                 | 27           | 24           | —            | —           | —           | —            | —           | —           |
| 92                                                                 | 33           | 36           | —            | —           | —           | —            | —           | —           |
| 92                                                                 | 27           | 29           | —            | —           | —           | —            | —           | —           |
| 93                                                                 | 33           | —            | —            | 104,8       | —           | —            | —           | —           |
| 93                                                                 | 33           | —            | —            | 46,5        | —           | —            | —           | —           |
| 94                                                                 | 35           | —            | 25           | —           | —           | —            | —           | —           |
| 94                                                                 | —            | —            | 39           | —           | —           | —            | —           | —           |
| 95                                                                 | 24           | —            | 25           | —           | —           | —            | —           | —           |
| 95                                                                 | 29           | —            | 31           | —           | —           | —            | —           | —           |
| 96                                                                 | 33           | —            | —            | 42          | —           | —            | —           | —           |
| 96                                                                 | —            | —            | —            | 47          | —           | —            | —           | —           |
| Poids<br>moyen des<br>organes                                      | 36           | 30           | 30           | 60          | 169         | 254          | 267         | 267         |
| Pourcentage<br>d'accroisse-<br>ment par<br>rapport aux<br>témoins. |              | 0            | 0            | 66          | 369         | 605          | 642         | 642         |

TABLEAU XVIII  
ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>1</sub> SUR L'OVAIRE  
DU RAT FEMELLE IMPUBERE

| N° de la souche                                      | Témoins | 0 mg. 574 | 1 mg. 435 | 2 mg. 87 |
|------------------------------------------------------|---------|-----------|-----------|----------|
| 91                                                   | 24      | 25        | —         | —        |
| 92                                                   | 32      | —         | —         | —        |
| 92                                                   | 30      | 35        | —         | —        |
| 93                                                   | 48,4    | —         | —         | 30,6     |
| 93                                                   | 34,4    | —         | —         | 43,9     |
| 94                                                   | 28      | —         | 31,7      | —        |
| 94                                                   | —       | —         | 31,2      | —        |
| 95                                                   | 20      | —         | 17,2      | —        |
| 95                                                   | 22,7    | —         | 23,3      | —        |
| 96                                                   | 30,3    | —         | —         | 26       |
| 96                                                   | —       | —         | —         | 25       |
| Poids moy. des organes                               | 30      | 30        | 25,8      | 31       |
| Pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins. |         | 0         | 0         | 3        |

TABLEAU XIX

ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>3</sub> SUR LE RAT FEMELLE IMPUBERE

| N° DE LA SOUCHE                                      | TÉMOINS | 0 MG. 70 |
|------------------------------------------------------|---------|----------|
| 48                                                   | 52,5    | 109,2    |
| 49                                                   | 58,5    | 124,1    |
| Poids moyen des organes.                             | 55,5    | 116,6    |
| Pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins. |         | 110      |

### CHAPITRE III

#### RESULTATS EXPERIMENTAUX CHEZ LA LAPINE

Nous présenterons dans ce chapitre les résultats obtenus dans nos essais de détermination de l'activité gonadotrophique en utilisant comme test l'ovulation chez la lapine. Rappelons que nous avons choisi à cet effet non pas la détermination de la plus petite dose active, mais une méthode statistique dans laquelle nous calculons le pourcentage d'ovulation pour une même dose injectée. Les essais ont été réalisés avec trois produits dont l'un était d'origine glandulaire et les autres placento-urinaires. Il nous a semblé en effet nécessaire de comparer les résultats obtenus avec des produits à ce point différents. Pour chacun nous avons déterminé le pourcentage d'action pour trois doses différentes; ainsi trois pourcentages différents ont été déterminés, chacun sur 20 animaux sauf pour l'extrait H<sub>1</sub>. Nous avons préféré nous borner à déterminer trois points judicieusement choisis, en répétant les essais sur un nombre d'animaux suffisamment grand. En effet les expériences de GADDUM et TRÉVAN ont montré, notamment pour la toxicité des digitaliques, que trois points judicieusement choisis donnent l'allure du plan, à condition d'opérer dans les zones spéciales de la courbe se rapprochant de 50 %.

Ici encore nous avons distingué entre extraits pré-hypophysaires et extraits placento-urinaires.

TABLEAU XX

ACTION DE L'EXTRAIT  $H_1$  SUR LE POURCENTAGE D'OVULATION  
CHEZ LA LAPINE

|                                        | DOSES INJECTÉES |          |          |          |
|----------------------------------------|-----------------|----------|----------|----------|
|                                        | 0 cc. 20        | 0 cc. 30 | 0 cc. 40 | 0 cc. 55 |
| Nombre d'animaux uti-<br>lisés .....   | 10              | 10       | 20       | 20       |
| Cas positifs .....                     | 3               | 6        | 17       | 20       |
| Pourcentage de cas po-<br>sitifs ..... | 30              | 60       | 85       | 100      |

TABLEAU XXI

ACTION DE L'EXTRAIT  $P_1$  SUR LE POURCENTAGE D'OVULATION  
CHEZ LA LAPINE

|                                        | DOSES INJECTÉES |          |           |
|----------------------------------------|-----------------|----------|-----------|
|                                        | 0 MG. 41        | 0 MG. 82 | 1 MG. 025 |
| Nombre d'animaux uti-<br>lisés .....   | 17              | 21       | 18        |
| Cas positifs .....                     | 6               | 12       | 12        |
| Pourcentage de cas po-<br>sitifs ..... | 35              | 57       | 66        |

### I. - Extraits préhypophysaires

Les résultats sont consignés dans le tableau XX où sont indiqués : les doses injectées, le nombre d'animaux expérimentés, le nombre d'animaux chez qui la réaction était positive, le pourcentage de cas positifs.

### II. - Extraits placentaires-urinaires

Nos expériences ont porté à la fois sur l'extrait  $P_1$  et l'extrait  $P_2$ . Nous réservons les résultats concernant l'extrait  $P_2$  pour le chapitre relatif à l'étalon et nous donnons ici les résultats se rapportant à l'extrait  $P_1$  dans le tableau XXI.

Les divers résultats obtenus nous ont permis de construire les courbes d'ovulation chez la lapine. En ordonnées nous avons fait figurer les pourcentages d'ovulation et en abscisses les doses de produit injectées. La courbe obtenue permet de faire l'estimation d'un produit. Elles sont représentées au chapitre « Etalon » (fig. 1 et 3, p. 97).

La dose active moyenne, c'est-à-dire celle qui se montre efficace aux environs de 50 % des animaux essayés est 0 cc. 27 d'après les résultats ci-dessus, cherchée par la méthode de TRÉVAN.

Il est intéressant de rapprocher ce résultat de ceux donnés par d'autres modes d'expression des calculs statistiques. On sait en effet que pour la détermination de la toxicité de diverses substances, certains auteurs ont proposé de substituer à la méthode de TRÉVAN des formules qui permettent de calculer la dose médiane. Nous nous sommes demandés si ces formules étaient également applicables aux déterminations d'ovulation. Nous n'entrerons pas dans le détail de ces conceptions et des calculs renvoyant à l'étude critique récente de RÉGNIER, LAMBIN et SZOLLOSI. Nous nous bornerons à donner la comparaison des résultats donnés par les méthodes de BEHRENS et DRAGSTET et LANG.

#### I. - Calculs selon Behrens

La formule est la suivante :

$$Dm = df - \frac{S(a \times b)}{m}$$

où  $Dm$  = dose moyenne cherchée;

$df$  = dosé à laquelle tous les animaux ont réagi;

$m$  = moyenne du nombre des animaux utilisés à chaque dose;

$a$  = différence entre deux doses successives;

$b$  = moyenne de la somme des cas positifs à deux doses successives.

| DOSES                    | occ. 20 | occ. 30 | occ. 40 | occ. 55 |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Cas positifs.....        | 3       | 6       | 17      | 20      |
| Nombre d'animaux employ. | 10      | 10      | 20      | 20      |
| $a$                      | 4,5     | 11,5    |         | 18,5    |
| $b$                      | 0,1     | 0,1     |         | 0,15    |
| $a \times b$             | 0,45    | 1,15    |         | 2,775   |

$$S(a \times b) = 4,375$$

$$Dm = 0,55 - \frac{4,375}{15} = \text{Occ. 26}$$

## II. - Calculs selon Dragstet et Lang

| DOSES        | OBSERVÉ |    | CALCULÉ |    |
|--------------|---------|----|---------|----|
|              | —       | +  | —       | +  |
| Occ. 20..... | 7       | 3  | 14      | 3  |
| Occ. 30..... | 4       | 6  | 7       | 9  |
| Occ. 40..... | 3       | 17 | 3       | 26 |
| Occ. 55..... | 0       | 20 | 0       | 46 |

Par conséquent, c'est la dose de Occ. 30 qui est la plus proche de la dose moyenne active.

## CHAPITRE IV

### RESULTATS EXPERIMENTAUX CONCERNANT LES METHODES SPECIFIQUES

Dans ce dernier chapitre nous envisageons les résultats obtenus pour différencier les extraits glandulaires des extraits placento-urinaires. Dans une des deux méthodes que nous avons employées, nous nous sommes tenus à un examen qualitatif alors que dans l'autre nous avons étudié l'action quantitative des produits injectés.

#### I. - Action sur le rat femelle hypophysectomisé

Nous groupons dans un même tableau XXII les résultats obtenus avec les produits glandulaires  $H_1$ ,  $H_2$  et  $H_3$  et le produit placento-urinaire  $P_1$ . Nous avons indiqué dans ce tableau les doses injectées et les réactions vaginales après les différents temps qui suivent l'injection en utilisant les notations suivantes: « *le* » indique la présence de leucocytes et « *ke* » la présence de cellules kératinisées, l'apparition de ces dernières étant un signe d'œstrus et de réaction positive.

Sur ce tableau, nous voyons que les animaux répondent par une réaction positive aux produits préhypophysaires et ne donnent aucune réaction pour les produits placento-urinaires.

## II. - Action sur le coq impubère . . .

Nous indiquons ici les résultats de nos essais de détermination de l'activité gonadotrophique chez le coq impubère en utilisant comme test, d'une part l'augmentation de poids des testicules, d'autre part le pourcentage d'accroissement de la surface de la crête du coq. Dans les tableaux XXIII et XXIV sont consignés les résultats des variations de poids des testicules et dans le tableau XXV les accroissements de surface des crêtes avec des injections de  $H_1$ ,  $H_4$ ,  $H_5$  et  $P_2$ .

On voit d'après les tableaux XXIII et XXIV que l'accroissement des testicules, qui atteint 420 avec 2 cc. 40 de l'extrait glandulaire  $H_1$  est pratiquement nul, même avec des doses fortes d'extrait placentourinaire  $P_2$ .

Enfin, le tableau XXV montre que seul l'extrait glandulaire agit sur l'accroissement de la surface de la crête sans que cette action soit toutefois régulièrement proportionnelle aux doses.

TABLEAU XXII

ACTION DES DIVERS PRODUITS SUR LA PRODUCTION D'ŒSTRUS  
CHEZ LE RAT FEMELLE HYPOPHYSECTOMISÉ

| PRODUITS                | ÉLÉMENTS CYTOLOGIQUES DU VAGIN<br>APRÈS UN TEMPS DE : |         |         |       | RÉAC-<br>TION |
|-------------------------|-------------------------------------------------------|---------|---------|-------|---------------|
|                         | 24 h.                                                 | 48 h.   | 72 h.   | 96 h. |               |
| P <sub>1</sub> 41 mg.   | le                                                    | le      | le      | le    | —             |
|                         | le                                                    | le      | le      | le    | —             |
|                         | le                                                    | le      | le      | le    | —             |
|                         | le                                                    | le      | le      | le    | —             |
|                         | le                                                    | le      | le      | le    | —             |
| H <sub>1</sub> 1 cc.    | le                                                    | le      | le + ke | ke    | +             |
|                         | le + ke                                               | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | ke      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le + ke | ke      | le    | +             |
|                         | ke                                                    | le      | le      | le    | +             |
|                         | ke                                                    | le      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | le      | ke    | +             |
| H <sub>4</sub> 0 cc. 65 | le                                                    | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | ke      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | ke      | le    | +             |
|                         | le                                                    | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | ke      | le    | +             |
| H <sub>4</sub> 2 cc.    | le                                                    | le      | ke      | le    | +             |
|                         | le + ke                                               | ke      | le      | le    | +             |
|                         | ke                                                    | le      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | le      | ke    | +             |
| H <sub>5</sub> 0 cc. 10 | le + ke                                               | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | ke      | le    | +             |
|                         | ke                                                    | le      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | ke      | ke      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | le      | le    | +             |
|                         | ke                                                    | le      | le      | le    | +             |
| H <sub>5</sub> 0 cc. 50 | le                                                    | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | le + ke | ke    | +             |
|                         | le                                                    | le + ke | ke      | le    | +             |
|                         | le                                                    | ke      | le      | le    | +             |
|                         | le                                                    | le      | le      | ke    | +             |

TABLEAU XXIII

ACTION DE L'EXTRAIT  $H_1$  SUR LES TESTICULES  
DU COQ IMPUBERE

| TÉMOINS                                                   |     | 1 CC. 20 | 1 CC. 80 | 2 CC. 40 |
|-----------------------------------------------------------|-----|----------|----------|----------|
| 339                                                       |     | 692      | 715      | 2139     |
| 262                                                       |     | 117      | 1070     | 3059     |
| 610                                                       |     | 147      | 575      | 697      |
| 314                                                       |     | 397      | 395      | 2034     |
| Poids<br>moyens<br>des org.                               | 381 | 338      | 688      | 1982     |
| Pourcentage<br>d'accroiss. par<br>rapport aux<br>témoins. |     | 0        | 75       | 420      |

TABLEAU XXIV

ACTION DE DIFFÉRENTS PRODUITS SUR LE TESTICULE  
DU COQ IMPUBERE

| Témoins                                 | $H_1$<br>1 cc. 80 | $H_4$<br>0 cc. 48 | $H_5$<br>0 cc. 30 | $P_2$<br>6 gam-<br>mas | $P_2$<br>60 gam-<br>mas |
|-----------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-------------------------|
| 104                                     | 329               | 209               | 163               | 128                    | 157                     |
| 148                                     | 235               | 445               | 225               | 203                    | 210                     |
| 133                                     | 297               | 281               | —                 | 187                    | 126                     |
| 208                                     | 234               | 284               | —                 | —                      | —                       |
| Poids<br>moyens<br>des org.             | 148               | 276               | 304               | 194                    | 170                     |
| Pourc. d'ac.<br>par rapport<br>aux tém. | 86                | 105               | 31                | 14                     | 10                      |

TABLEAU XXV

ACTION DES DIFFERENTS PRODUITS SUR L'ACCROISSEMENT  
DE LA CRETE DU COQ IMPUBERE

| DOSES DE PRODUIT         | MOYENNE DES POURCENTAGES<br>D'AUGMENTATION |
|--------------------------|--------------------------------------------|
| Témoins                  | 5,5                                        |
| H <sub>1</sub> 1 cc. 20  | 54,5                                       |
| H <sub>1</sub> 1 cc. 80  | 23,5                                       |
| H <sub>1</sub> 2 cc. 40  | 4,2                                        |
| H <sub>4</sub> 0 cc. 48  | 51,5                                       |
| H <sub>5</sub> 0 cc. 30  | 63,5                                       |
| P <sub>2</sub> 6 gammas  | 4,6                                        |
| P <sub>2</sub> 60 gammas | 2,3                                        |

### Conclusion

Deux sortes de produits ont été étudiés par les méthodes décrites dans la première partie : les uns d'origine préhypophysaire, obtenus par extraction acétonique de l'hypophyse antérieure, les autres d'origine placentario-urinaire, extraits de l'urine de femme enceinte.

Par la méthode de l'accroissement de poids de la prostate et des vésicules séminales pesées ensemble, 2 cc. 10 d'extrait H<sub>1</sub> donnent un pourcentage d'accroissement de poids de 20 %, 2 cc. 80 d'extrait H<sub>2</sub> 9 % et 4 cc. 20 de H<sub>3</sub> 28 %, 28 mgr. 7 de P<sub>1</sub> donne 145 %.

Par la méthode d'accroissement de poids de l'utérus, 2 cc. 10 d'extrait H<sub>1</sub> donnent 93 % d'accroissement, 5 cc. 60 de H<sub>2</sub> 27 %, et 4 cc. 20 de H<sub>3</sub> aucun accroissement; 28 mgr. 7 de P<sub>1</sub> donnent 642 % et 0 mgr. 70 de P<sub>3</sub> 110 %.

Par la méthode d'ovulation chez la lapine, 0 cc. 30 de  $H_1$  donnent un pourcentage de 60 % de cas positifs et 0 mgr. 82 de  $P_1$  57 %.

Chez le rat hypophysectomisé une dose de 41 mmgr. de  $P_1$  ne donne aucune réapparition d'œstrus et tous les extraits  $H_1$ ,  $H_4$  et  $H_5$  ont tous fait apparaître des cellules kératinisées.

Enfin, chez le coq impubère, 1 cc. 80 de  $H_1$  nous fournit une fois 75 % d'accroissement de poids des testicules, une autre fois 86 %, les extraits  $H_4$  et  $H_5$  nous donnent un accroissement sensible alors que l'extrait  $P_2$  produit un accroissement pratiquement nul pour une dose forte.

On voit ainsi que les résultats sont très variables suivant les produits et montrent bien la nécessité d'un étalonnage.

## TROISIEME PARTIE

# ÉTUDE DE LA VALEUR ET DE LA PRÉCISION DES DIVERSES MÉTHODES EMPLOYÉES

On sait que les méthodes biologiques sont souvent d'une précision moindre que les méthodes chimiques et cependant elles sont seules utilisables actuellement dans le cas de l'hypophyse. Afin de diminuer le plus possible les causes d'erreur susceptibles de se produire dans de telles méthodes, nous nous sommes efforcés de choisir des tests se prêtant à une mesure suffisamment rigoureuse et évitant la part d'interprétation personnelle. C'est ainsi qu'au lieu d'utiliser des méthodes apportant des erreurs de subjectivité comme l'observation de l'œstrus et des corps jaunes ou d'interprétation difficile telles que celles qui déterminent les modifications histologiques des vésicules séminales ou de l'ovaire ou l'augmentation de volume de la prostate et des vésicules séminales, nous avons choisi des méthodes essentiellement objectives utilisant la pesée et déterminant l'augmentation de poids de divers organes : prostate, vésicules séminales, glandes préputiales, utérus, ovaires ou la mensuration précise planimétrique sur le cliché servant de contrôle pour l'accroissement de la crête du coq.

De plus, afin d'éviter les variations individuelles de la sensibilité infiniment variable des animaux, nous avons pris soin de faire toutes nos déterminations sur un grand nombre de sujets, soit pour les méthodes comparatives, soit pour les méthodes statistiques qui déterminent quelles sont les relations entre les doses et leurs effets physiologiques, de manière à pouvoir décider quelle est la dose qui correspond à un effet déterminé. Enfin nous avons employé la méthode croisée qui élimine les variations de sensibilité individuelle puisqu'elle consiste à injecter à un même groupe d'animaux successivement la préparation à doser et la préparation étalon (ovulation).

Il restait cependant à envisager pour les diverses techniques quelle était celle qui fournissait les résultats les plus constants, à étudier leur précision et à comparer entre eux les résultats fournis. Deux procédés permettent de déterminer la précision d'une méthode biologique : le premier est le calcul d'erreurs (TRÉVAN, BURN, GADDUM, COWARD) qui est basé sur un raisonnement mathématique et semble difficile à appliquer aux sciences biologiques (RÉGNIER, LAMBIN et SZOLLOSI, CAHEN et LAUNAY). Nous nous sommes bornés à employer le second moyen qui consiste à répéter l'essai d'un de nos produits dans des conditions identiques et à apprécier la grandeur des erreurs commises. De plus, après avoir déterminé les conditions expérimentales des méthodes de dosage biologique et avoir construit la courbe représentative des phénomènes permettant de le réaliser, nous avons répété l'expérience en utilisant d'une part une dose déterminée de produit, d'autre part une solution diluée du même produit et en se servant du premier

comme étalon, nous avons cherché la concentration et ainsi l'écart entre le chiffre théorique et le chiffre trouvé.

Dans cette troisième partie de notre travail, nous envisagerons en premier lieu la détermination des écarts expérimentaux, puis nous effectuerons la comparaison des résultats fournis par ces différentes méthodes, enfin nous calculerons la précision et la sensibilité des diverses méthodes.



## CHAPITRE PREMIER

### DETERMINATION DES ECARTS EXPERIMENTAUX

Il nous a semblé logique et simple de déterminer les écarts expérimentaux en répétant les dosages à l'aide de la même préparation. Nous avons pu réaliser ces déterminations chez le rat mâle, le rat femelle et la lapine.

#### I. - RAT MALE.

Après avoir une première fois évalué l'activité gonadotrophique de la préparation par l'accroissement de poids des différents organes chez le rat, nous avons répété cette mesure dans des conditions absolument identiques.

Les résultats dans le tableau XXVII montrent que les dosages utilisant comme test la prostate et les vésicules séminales réunies et les glandes préputiales donnent des chiffres assez différents; les meilleurs résultats cependant étant obtenus pour des accroissements voisins de 50 %, ce qui correspond à la zone optimum de dosage. Ceci concorde avec les données des dosages biologiques.

TABLEAU XXVII

CONSTANCE DES RESULTATS — RAT MALE

| Organes                               | Doses    | 1 <sup>er</sup> essai | 2 <sup>e</sup> essai | Moyenne<br>des<br>résultats | Erreurs<br>relatives<br>% |
|---------------------------------------|----------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Prostate et<br>vésicules<br>séminales | 1 cc. 40 | 9                     | 8                    | 8,5                         | 5,9                       |
|                                       | 1 cc. 75 | 18                    | 13                   | 15,5                        | 16                        |
|                                       | 2 cc. 10 | 33                    | 13                   | 23                          | 43                        |
| Prostate                              | 1 cc. 40 | 21                    | 21                   | 21                          | 0                         |
|                                       | 1 cc. 75 | 33                    | 5                    | 19                          | 73                        |
|                                       | 2 cc. 10 | 39                    | 0                    | 19,5                        | 100                       |
| Vésicules<br>séminales                | 1 cc. 40 | 0                     | 0                    | 0                           | 0                         |
|                                       | 1 cc. 75 | 0                     | 15                   | 7,5                         | 100                       |
|                                       | 2 cc. 10 | 12                    | 25                   | 18,5                        | 35                        |
| Pénis                                 | 1 cc. 40 | 0                     | 35                   | 17,5                        | 100                       |
|                                       | 1 cc. 75 | 38                    | 18                   | 28                          | 35                        |
|                                       | 2 cc. 10 | 8                     | 25                   | 16,5                        | 51                        |
| Glandes<br>préputiales                | 1 cc. 40 | 45                    | 3,5                  | 24,55                       | 86                        |
|                                       | 1 cc. 75 | 36                    | 24                   | 30                          | 20                        |
|                                       | 2 cc. 10 | 33                    | 39                   | 36                          | 8                         |

TABLEAU XXVIII

CONSTANCE DES RESULTATS — RAT FEMELLE

| Organes | Doses    | 1 <sup>er</sup> essai | 2 <sup>e</sup> essai | Moyenne<br>des<br>résultats | Erreurs<br>relatives<br>% |
|---------|----------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Utérus  | 1 cc. 40 | 15,5                  | 30                   | 22,75                       | 31                        |
|         | 1 cc. 75 | 43                    | 67                   | 55                          | 21                        |
|         | 2 cc. 10 | 85,5                  | 100                  | 92,75                       | 7,8                       |

TABLEAU XXIX

CONSTANCE DES RESULTATS — LAPINE

| Produit        | Doses      | 1 <sup>er</sup> essai | 2 <sup>e</sup> essai | Moyenne<br>des<br>résultats | Erreurs<br>relatives<br>% |
|----------------|------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| H <sub>1</sub> | 0 cc. 40   | 80                    | 90                   | 85                          | 5,8                       |
|                | 0 mg. 41   | 30                    | 42                   | 36                          | 16                        |
| P <sub>1</sub> | 0 mg. 82   | 70                    | 50                   | 60                          | 16                        |
|                | 1 mg. 025  | 70                    | 62                   | 66                          | 6                         |
|                | 0 gamma 50 | 30                    | 40                   | 35                          | 14                        |
| P <sub>2</sub> | 1 gamma    | 50                    | 60                   | 55                          | 10                        |
| étalon         | 1 gamma 50 | 60                    | 80                   | 70                          | 14                        |

## II. - RAT FEMELLE.

Les essais, réalisés avec la préparation H<sub>1</sub>, ont porté sur l'augmentation de poids de l'utérus chez la rate. Ils sont indiqués dans le tableau XXVIII.

L'examen de ce tableau montre que là encore il existe une zone optimum de dosage qui paraît comprise entre 50 % et 100 %.

## III. - LAPINE.

Nos essais ont été réalisés ici surtout avec les deux produits urinaires P<sub>1</sub> et P<sub>2</sub> et avec le produit pré-hypophysaire H<sub>1</sub>. Les résultats publiés pour chaque essai ont été effectués sur 10 animaux. Ils sont indiqués dans le tableau XXIX.

Comme il apparaît à la lecture de ce tableau, la précision du dosage est beaucoup plus grande qu'avec les deux animaux précédents. Ceci tient vraisemblablement au fait que la méthode utilisée est croisée; les essais étant réalisés sur les mêmes animaux avec les deux produits, l'erreur due à la variation de la sensibilité individuelle est minimum.



## CHAPITRE II

### COMPARAISON DES RESULTATS FOURNIS PAR LES DIFFERENTES METHODES

Il était intéressant de comparer, par rapport à un produit concentré choisi comme élément de comparaison, l'activité respective des différents produits par les diverses méthodes. Nous groupons ces chiffres dans les tableaux suivants : le tableau XXX pour les préparations préhypophysaires et le tableau XXXI pour les préparations placento-urinaires.

L'examen de ces tableaux montre que, malgré la divergence des animaux et des tests, les rapports d'activité ne varient pas dans des proportions très importantes, à condition de comparer des produits de nature identique (préhypophysaires ou placento-urinaires). On voit aussi que parmi les extraits préhypophysaires l'extrait  $H_4$  est le plus actif et pour les deux extraits placento-urinaires  $P_2$  est très actif par rapport à  $P_1$ .

D'autre part, les résultats fournis par la méthode à l'utérus et ceux de la méthode à l'ovulation chez la lapine sont les plus voisins.

Il semble donc qu'à condition d'effectuer le dosage non pas en valeur absolue mais par rapport à un étalon, toutes les méthodes fournissent de bons résultats.

**TABLEAU XXX**  
**ACTIVITE DE DIVERSES PREPARATIONS PREHYPOPHYSAIRES PAR RAPPORT A L'EXTRAIT H<sub>1</sub>**

| Produits             | Prostate | Prostate +<br>vésicules<br>séminales | Vésicules<br>séminales | Glandes<br>prépu-<br>tiales | Pénis | Utérus | Lapin | Coq |
|----------------------|----------|--------------------------------------|------------------------|-----------------------------|-------|--------|-------|-----|
| H <sub>1</sub>       | 100      | 100                                  | 100                    | 100                         | 100   | 100    | 100   | 100 |
| H <sub>1</sub> dilué | 61       | 63                                   | —                      | 69                          | 166   | 53     | 55    | —   |
| H <sub>2</sub>       | —        | 15                                   | —                      | 10                          | —     | 26     | —     | —   |
| H <sub>4</sub>       | —        | 467                                  | 488                    | 553                         | —     | —      | —     | 404 |

**TABLEAU XXXI**  
**ACTIVITE D'UN EXTRAIT PLACENTO-URINAIRE PAR RAPPORT A L'EXTRAIT P<sub>2</sub>**

| Produits       | Prostate | Prostate +<br>vésicules<br>séminales | Vésicules<br>séminales | Glandes<br>prépu-<br>tiales | Pénis | Utérus | Lapin  | Coq |
|----------------|----------|--------------------------------------|------------------------|-----------------------------|-------|--------|--------|-----|
| P <sub>2</sub> | 1000     | 1000                                 | 1000                   | 1000                        | 1000  | 1000   | 1000   | —   |
| P <sub>1</sub> | 0,0235   | 0,0194                               | 0,00975                | 0,0060                      | —     | 0,0149 | 0,0129 | —   |

### CHAPITRE III

#### PRECISION DES METHODES

Il reste à déterminer cependant quelle est la méthode qui se montre la plus précise. La méthode cruciale de vérification de la précision d'une méthode consiste à effectuer la dilution d'un produit d'activité connue et rechercher par l'expérience si le taux de cette dilution est le même que celui qui correspond au chiffre théorique. Nous avons précisément tenté d'effectuer cette détermination. Nous avons essayé de retrouver expérimentalement la dilution du produit  $H_1$  et ces essais ont porté sur l'utérus de la rate impubère et sur l'ovulation chez la lapine. Les résultats sont résumés dans le tableau XXXII.

Comme on le voit les résultats sont très approchés et ils sont meilleurs dans le premier essai (utérus) parce que nous étions dans la zone optimum de dosage (pourcentage d'accroissement : 51 % pour l'étalon, 41 % pour la dilution) alors que pour l'expérience relatée dans la deuxième ligne nous en étions plus éloignés (pourcentage d'accroissement : 110 % pour l'étalon, 42 % pour la dilution). Les résultats sont calculés à l'aide de la courbe : on cherche les doses correspondantes à ces accroissements et on fait le

solution diluée

rapport —————.

étalon

# TABLEAU XXXII

## PRECISION DES METHODES A L'UTERUS ET D'OVULATION

| Animal          | Titre<br>de $H_1$<br>étalon. | TITRE DE $H_1$ DILUÉ |                    | Diffé-<br>rence | Erreur<br>% |
|-----------------|------------------------------|----------------------|--------------------|-----------------|-------------|
|                 |                              | Chiffre<br>trouvé    | Chiffre<br>calculé |                 |             |
| Rat<br>(utérus) | 100                          | 91,66                | 90                 | 1,66            | 1,8         |
| Rat<br>(utérus) | 100                          | 68,6                 | 75                 | 6,4             | 8,5         |
| Lapine          | 100                          | 70                   | 75                 | 5               | 7           |

## CHAPITRE IV

### SENSIBILITÉ DES METHODES

Il ne suffit plus qu'une méthode soit précise et constante ; il est capital, dans le cas d'un produit rare et coûteux, d'avoir une méthode sensible ; le fait est particulièrement important lorsque le chimiste se préoccupe du difficile problème de l'isolement et de la purification des hormones. Pour comparer la sensibilité des différentes méthodes, il eut été nécessaire de posséder un étalon ; faute de celui-ci, nous avons déterminé la sensibilité de ces méthodes en comparant les chiffres des activités moyennes d'une même préparation.

Dans le tableau XXXIII, nous indiquons les doses produisant 50 % d'activité chez les différents animaux utilisés et avec les divers tests, à la fois pour les produits préhypophysaires et les produits placento-urinaires. Dans ce tableau, on voit que la lapine se montre respectivement 4 fois plus sensible que le rat femelle (test utérus) ainsi que le coq, 15 fois plus sensible que le rat mâle (test : prostate + vésicules séminales) pour le produit placento-urinaire, et 12,4 fois seulement pour le produit préhypophysaire. Ainsi, la méthode utilisant comme test l'ovulation chez la lapine est la plus sensible de toutes celles que nous avons étudiées.



## CHAPITRE V

### SPECIFICITÉ DES METHODES POUR LES PRODUITS PRÉHYPOPHYSAIRES

Il restait un dernier point à envisager pour décider du choix des diverses méthodes de dosage mises au point dans ce travail : la spécificité. C'est là un caractère fondamental qui permet de déceler les falsifications des produits préhypophysaires par les extraits placento-urinaires ; ces derniers, en effet, sont moins actifs dans certains cas cliniques et toujours d'un prix de revient infiniment moindre que les premiers. A ce point de vue, les méthodes de dosage utilisant le rat mâle ou le rat femelle, ainsi que la lapine, ne permettent de faire aucune discrimination. La méthode cruciale est sans conteste celle qui utilise le rat hypophysectomisé ; cependant, étant donnée la difficulté de l'hypophysectomie et de la conservation des animaux, c'est la technique qui utilise le coq impubère, aussi spécifique, à laquelle nous avons donné la préférence. Quoi qu'il en soit, animal hypophysectomisé et coq impubère permettent de déceler la fraude.

Une réserve importante doit être apportée à cette affirmation : un produit placento-urinaire auquel on ajoute une petite quantité de produit préhypophysaire se montre actif chez le rat hypophysectomisé et le coq ; l'extrait placento-urinaire exerce une action

TABLEAU XXXIII

DOSES D'ACTIVITE MOYENNE

| PRO-<br>DUITS  | DOSES PRODUISANT                      |                        |                         |                                  |                      |                                 |                     |
|----------------|---------------------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------------------|---------------------|
|                | 50 % augm.<br>Prostate +<br>Vés. Sém. | 50 % augm.<br>Prostate | 50 % augm.<br>Vés. Sém. | 50 % augm.<br>glandes<br>préput. | 50 % augm.<br>Utérus | 50 % augm.<br>Testicules<br>Coq | 50 % ovu-<br>lation |
| H <sub>1</sub> | 3 cc. 24                              | —                      | 2 cc. 72                | 2 cc. 60                         | 1 cc. 75             | 1 cc. 66                        | 0 cc. 26            |
| P <sub>1</sub> | —                                     | —                      | —                       | —                                | 2 mg. 50             | —                               | 0 mg. 69            |
| P <sub>2</sub> | 13 gam.                               | 13 gam. 8              | 10 gam. 6               | 12 gam. 6                        | 3 gam. 6             | —                               | 0 gam. 86           |

synergique vis-à-vis du produit préhypophysaire. Cependant, on peut avoir la présomption d'un mélange frauduleux des deux préparations en comparant les résultats fournis par les deux séries de méthodes, spécifiques et non spécifiques. C'est seulement dans le cas où les deux résultats concordent qu'on peut affirmer avoir affaire à une préparation préhypophysaire et non placento-urinaire.

### Conclusions

1° Les méthodes d'augmentation de poids de l'utérus chez le rat femelle impubère et l'augmentation de poids des testicules du coq impubère, la méthode de détermination statistique d'ovulation chez la lapine donnent des résultats suffisamment constants et homogènes pour être appliqués au dosage biologique des préparations préhypophysaires. Au contraire, l'augmentation de poids des organes secondaires du rat mâle et la mensuration de l'augmentation de la crête du coq impubère fournissent des méthodes moins fidèles.

2° L'erreur relative moyenne pour la méthode utilisant l'utérus de la rate impubère est de 19,9 et celle de la méthode utilisant la lapine 11,6.

3° A condition d'effectuer le dosage des préparations gonadotrophiques, non pas en valeur absolue, mais par rapport à un étalon de référence, les méthodes étudiées fournissent des résultats très voisins. Cependant, les deux méthodes de choix, en raison de leur précision, de leur facilité d'exécution et de leur sensibilité, sont :

— l'augmentation de poids de l'utérus chez la rate impubère ;

— la détermination statistique de l'ovulation chez la lapine, celle-ci étant la plus sensible et la plus précise.

4° Pour déterminer si un extrait est entièrement urinaire ou est soit entièrement, soit partiellement préhypophysaire, les méthodes de pesée des testicules du coq et d'apparition d'œstrus chez le rat femelle hypophysectomisé fournissent des résultats très satisfaisants.

5° Pour affirmer qu'un produit glandulaire est falsifié par une préparation placentario-urinaire, il est nécessaire de comparer les résultats apportés par les deux séries de méthodes, spécifiques et non spécifiques.

## QUATRIEME PARTIE

### ÉTUDE DU CHOIX ET DU TITRE D'UN ÉTALON

Pour que les essais des préparations préhypophysaires ou placento-urinaires ci-dessus envisagées deviennent comparables et acquièrent les caractères d'un véritable dosage, il restait un dernier problème à résoudre : établir une préparation étalon d'activité et de stabilité satisfaisantes. Ce difficile problème n'a jusqu'ici reçu aucune solution complète ; en effet, la Commission Internationale n'a pu jusqu'ici envisager que la préparation d'étalon pour les extraits placento-urinaires ; aucune solution n'existe pour les extraits préhypophysaires, étant donné que non seulement on n'a pas pu isoler d'hormone, mais encore qu'on ne possède pas actuellement de préparations opothérapiques d'activité, sinon constante, du moins voisine. Nous nous sommes bornés à utiliser une préparation commerciale plus active, conservée en flacon scellé à 0°, que nous ne pouvons utiliser que comme un élément de comparaison pour nos essais.



## CHAPITRE PREMIER

### ETUDE CRITIQUE ET CHOIX DES DIVERS ETALONS DE PREPARATIONS GONADOTROPHIQUES

Puisqu'il existe deux séries de préparations, les unes d'activité variable et indéterminée (extraits préhypophysaires), les autres préparées à l'état concentré et voisin de la pureté (extraits placento-urinaires), on aurait pu être tenté d'utiliser le deuxième comme étalon général. C'est absolument impossible, car non seulement il en est des produits opothérapiques comme des produits végétaux : un principe actif n'est pas identifiable à la drogue entière, mais nous avons encore insisté sur les différences capitales entre les deux préparations.

On pouvait encore se demander si pour le dosage des préparations préhypophysaires il était possible de se servir de l'étalon placento-urinaire étudié, sinon comme étalon, du moins comme élément de comparaison par plusieurs méthodes. Une seule méthode était décisive : la comparaison de l'activité des différents produits préhypophysaires. Les résultats sont consignés dans le tableau XXXIX.

La lecture de ce tableau montre que les résultats rapportés au produit  $P_2$  sont très voisins pour les extraits placento-urinaires. Il n'en est pas de même pour les extraits préhypophysaires qui varient de 0,0283 à 0,0822. Ce résultat, qui confirme la différence

d'action entre le produit placent-urinaire et l'extrait préhypophysaire montre que ce produit ne saurait être utilisé pour le dosage des préparations préhypophysaires. Ce fait confirme la grande différence des courbes exprimant les variations, d'une part avec un produit placent-urinaire ( $P_2$ ), et d'autre part avec un produit préhypophysaire ( $H_1$ ).

Deux exemples illustrent cette démonstration: nous faisons figurer ci-dessous deux séries de courbes exprimant les variations de pourcentages d'ovulation et d'accroissement de poids des organes en fonction des doses de produit, les unes (fig. 1 et 3) avec un extrait préhypophysaire, les autres avec un extrait placent-urinaire (fig. 2 et 4). On voit que dans les deux cas les courbes ont une allure très différente: ce sont des courbes en S pour les extraits préhypophysaires et elles ont l'allure d'une droite pour les extraits placent-urinaires.

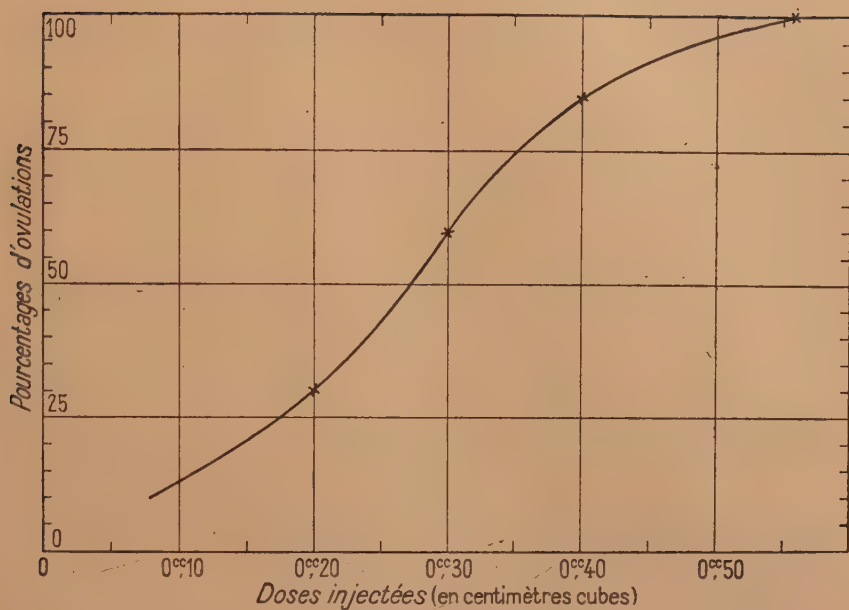


FIG. 1. — Action de l'extrait H<sub>1</sub> sur la lapine

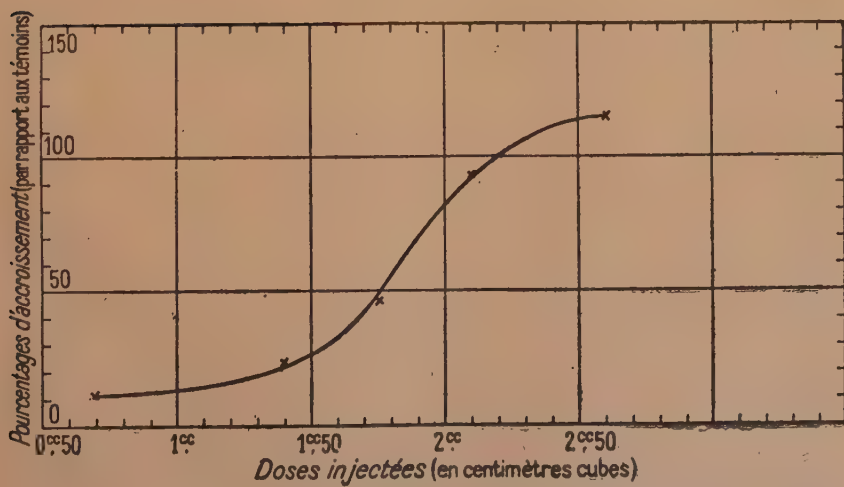


FIG. 2. — Action de l'extrait H<sub>1</sub> sur l'utérus du Rat femelle impubère

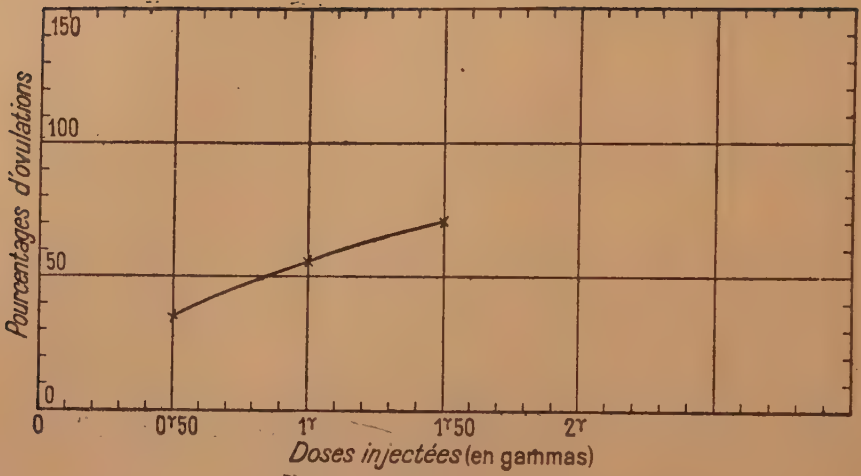


FIG. 3. — Action de l'extrait  $P_2$  sur la lapine

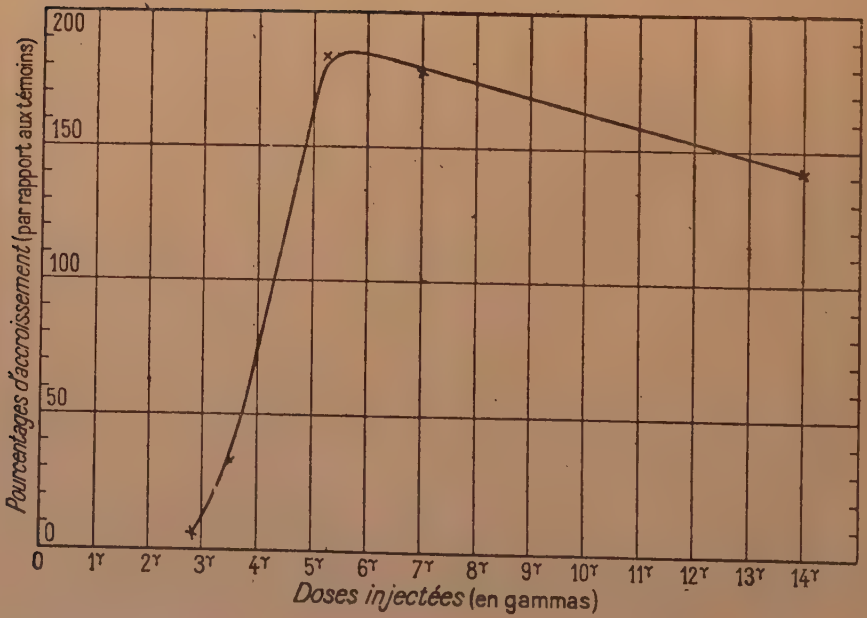


FIG. 4. — Action de l'extrait  $P_2$  sur l'utérus du Rat femelle impubère

## CHAPITRE II

### PREPARATION DES ETALONS

#### I. - Produits préhypophysaires

S'il est donc indispensable de choisir comme étalon un produit d'origine glandulaire pour le dosage des extraits de cette origine, la séparation des hormones n'est pas encore assez avancée pour qu'on puisse utiliser un produit cristallisé. De plus, nos connaissances sur les techniques d'extraction de ces extraits préhypophysaires ne sont pas encore assez grandes pour qu'il soit possible de proposer un mode d'extraction permettant d'obtenir le soluté destiné à l'essai, comme il avait pu être réalisé pour la digitale, la scille et même la posthypophyse.

#### II. - Produits placentario-urinaires

La préparation de l'étalon placentario-urinaire telle que nous l'ont communiquée les laboratoires qui nous l'ont adressée est la suivante :

Principe : Insolubilisation par l'alcool absolu, puis purification par dissolutions dans l'alcool dilué et précipitations par l'alcool absolu successivement répétées.

La matière première est l'urine fournie par le personnel féminin de l'usine présentant un caractère de

grossesse certain. Dans une marmite en fonte de 1.000 à 1.500 litres, on mélange 200 litres d'urine avec 5 fois son volume d'alcool à 95° en agitant sans cesse. Le produit brut précipité est du prolan souillé de sels ; il est recueilli sur un filtre et lavé à l'alcool éthylique. On dissout le précipité dans l'alcool dilué ; le soluté obtenu est stérilisé par filtration. Le filtrat est précipité à nouveau par l'alcool à 95°. Au cours de cette opération, il se produit une purification. Le précipité obtenu est séché dans le vide à basse température dans des conditions d'asepsie rigoureuse et soumis à une nouvelle purification par redissolution dans l'alcool dilué et précipitation par l'alcool à 95°. Le précipité finalement obtenu est à nouveau desséché dans le vide à basse température.

Cet extrait se présente sous forme d'une poudre gris jaunâtre, insipide, facilement soluble dans l'eau, mais insoluble dans l'alcool, l'éther et autres liquides solubilisant les lipoïdes. Le produit est extraordinairement sensible aux influences chimiques et thermiques : un simple chauffage à 80° ou de minimes modifications de *pH* du milieu suffisent à le rendre inactif. Jusqu'à présent, on ne connaît encore rien de précis sur la constitution chimique du principe actif.

### CHAPITRE III

#### TITRE DE L'ETALON

##### I. - Extrait préhypophysaire

L'examen d'un grand nombre de produits commerciaux que nous avons utilisés nous a permis de constater que leur activité est très variable, allant de l'inactivité à des doses courantes (une ampoule) jusqu'à une activité assez forte (1/5 d'ampoule donnant un accroissement moyen des organes du rat mâle) ; d'autre part, comme les dosages n'ont de sens que s'ils sont faits par rapport à un étalon de comparaison, il nous a semblé convenable d'utiliser dans nos expériences le produit le plus actif comme élément de comparaison provisoire, sans qu'il soit possible de le proposer comme étalon.

## II. - Extrait placento-urinaire

a) *Etalonnage.* — Pour nous documenter sur le titre à donner à cet étalon, nous avons déterminé son action par diverses méthodes. Les résultats se rapportant au rat mâle impubère sont réunis dans le tableau XXXVI, ceux sur le rat femelle impubère dans le tableau XXXVII et enfin sur la lapine dans le tableau XXXVIII. Les doses sont indiquées en gammas. L'activité moyenne est de 13 gammas chez le rat mâle, 3 gammas chez la femelle et 1 gamma chez la lapine.

b) *Etude du titre.* — Comme on l'a fait pour la digitale, la scille, la folliculine, il vaut mieux utiliser le principe le plus actif plutôt que de prendre une préparation d'activité moyenne. Pour exprimer le titre, il est plus simple, pour la commodité des calculs et la clarté de l'exposition, de choisir une unité. Cette unité est un poids d'étalon et non pas une réaction physiologique. Celle que nous proposons actuellement est la dose d'extrait placento-urinaire équivalente en activité à 1 gamma d'étalon, cette dose produisant 55 % d'ovulation chez la lapine 24 heures après l'injection intra-veineuse. Elle est un peu faible en utilisant un test moins sensible et si l'on emploie l'utérus de la rate ou les testicules du coq, il faut prendre une dose plus forte : 3 gamma 5.

Quel que soit le titre de l'unité choisi, on dit qu'un poids déterminé d'extrait renferme une unité d'activité quand il possède la même activité que 1 gamma d'étalon déterminée sur la lapine ou 3 gammas 5 d'étalon, déterminée chez le rat femelle par la méthode à l'utérus.

Un milligramme d'extrait étalon contient 1.000 unités, un produit possédant une activité égale à 80 % de celle de l'étalon contiendra 800 unités au milligramme (1).

---

(1) D'ailleurs, depuis que nous avons étudié cette question, la troisième Conférence Internationale sur la standardisation des hormones, réunie à Genève en août 1938, a adopté un étalon pour les produits d'origine placentaire-urinaire constitué par un mélange de préparations provenant de différents fabricants et que l'on a dilué avec une poudre inerte. L'activité gonadotrophique spécifique de 9 mg. 1, soit 100 gammas représente l'unité internationale à adopter pour le titrage de toutes les préparations tirées de l'urine de femme enceinte, à l'exclusion de toute autre. Cette préparation étalon est comprimée en tablettes de 100 unités que le National Institute for Medical Research de Londres conserve à 0° C. et à l'abri de la lumière et qui le délivre aux organismes appropriés. En ce qui concerne les préparations d'origine préhypophysaire, la Conférence a trouvé que la question n'était pas encore assez au point pour permettre l'établissement d'un étalon.



## CHAPITRE IV

### TITRE DES PREPARATIONS COMMERCIALES

Un autre problème essentiellement différent des précédents restait à résoudre : le titre des préparations commerciales. Ce n'est pas un problème de pharmacologie, mais un problème de clinique. En effet, l'expérience du médecin, seule, permet de fixer le titre des préparations à employer, surtout lorsqu'il s'agit d'un produit amenant la formation d'antihormones. Par contre, dès maintenant, c'est la tâche du pharmacologue d'éliminer, grâce au dosage biologique, comparativement à l'étalon ou pseudo-étalon, les préparations inactives.

Il semble qu'actuellement les produits peuvent être contrôlés et donc mis en vente. Cependant, il nous paraît nécessaire, afin d'éviter toute ambiguïté favorable à l'industriel et non au public, de toujours bien faire préciser le nom donné au produit mis en vente et bien distinguer dans le prospectus un extrait renfermant la ou les hormones du lobe antérieur de l'hypophyse et un produit qui possède, comme l'hormone préhypophysaire, des propriétés gonadotrophiques, mais qui est extrait de l'urine et non de la préhypophyse et n'a aucune action sur l'animal hypophysectomisé.

# TABLEAU XXXVI

## ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>2</sub> SUR LES ORGANES DU RAT MALE IMPUBERE

| N° de la souche                                                         | TÉMOINS       |    |       |    | 10 GAMMAS 5 |    |       |    | 14 GAMMAS     |    |       |     | 21 GAMMAS |     |       |     |
|-------------------------------------------------------------------------|---------------|----|-------|----|-------------|----|-------|----|---------------|----|-------|-----|-----------|-----|-------|-----|
|                                                                         | P. +<br>G. P. |    | V. S. |    | P.          |    | G. P. |    | P. +<br>V. S. |    | V. S. |     | P.        |     | G. P. |     |
|                                                                         |               |    |       |    |             |    |       |    |               |    |       |     |           |     |       |     |
| 99                                                                      | 26            | 65 | 20    | 18 | —           | —  | —     | —  | —             | —  | —     | —   | —         | —   | —     | —   |
| 99                                                                      | 29            | 10 | 19    | 17 | —           | —  | —     | —  | —             | —  | —     | —   | —         | —   | —     | —   |
| 100                                                                     | 53            | 14 | 39    | 16 | —           | —  | —     | —  | —             | —  | —     | —   | —         | —   | —     | —   |
| 102                                                                     | 40            | 11 | 28    | 22 | 52          | 13 | 38    | 39 | —             | —  | —     | —   | —         | —   | —     | —   |
| 107                                                                     | 56            | 11 | 45    | 35 | 85          | 27 | 38    | 41 | 93            | 24 | 69    | 52  | 173       | 48  | 125   | 102 |
| 108                                                                     | 34            | 65 | 27    | 20 | —           | —  | —     | —  | 49            | 12 | 36    | 22  | —         | —   | —     | —   |
| 109                                                                     | 73            | 30 | 43    | 20 | 63          | 20 | 43    | 33 | 96            | 40 | 56    | 50  | —         | —   | —     | —   |
| 109                                                                     | 47            | 9  | 38    | 44 | 82          | 32 | 50    | 70 | 79            | 26 | 53    | 44  | —         | —   | —     | —   |
| 109                                                                     | —             | —  | —     | —  | —           | —  | —     | —  | 120           | 38 | 82    | 50  | —         | —   | —     | —   |
| Poids<br>moyen des<br>organes                                           | 53            | 15 | 38    | 29 | 67          | 25 | 44    | 44 | 87            | 28 | 59    | 43  | 128       | 40  | 88    | 83  |
| Pourcentage d'accroissement<br>par rapport aux témoins<br>de la souche. | 24            |    |       |    | 53          | 12 | 46    | 67 | 100           | 55 | 44    | 219 | 300       | 180 | 277   |     |

TABLEAU XXXVII  
ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>2</sub> SUR LES ORGANES DU RAT FEMELLE IMPUBERE

| N° de la souche                                                   | TÉMOINS |     | 2 GAMMAS 80 |     | 3 GAMMAS 50 |     | 5 GAMMAS 35 |     | 7 GAMMAS |     | 14 GAMMAS |     |
|-------------------------------------------------------------------|---------|-----|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|----------|-----|-----------|-----|
|                                                                   | Ov.     | Ut. | Ov.         | Ut. | Ov.         | Ut. | Ov.         | Ut. | Ov.      | Ut. | Ov.       | Ut. |
| 99                                                                | 17,5    | 20  | —           | —   | —           | —   | —           | —   | 23       | 98  | 17,5      | 25  |
| 99                                                                | 31,5    | 40  | —           | —   | —           | —   | —           | —   | —        | —   | —         | —   |
| 100                                                               | 30      | 32  | —           | —   | —           | —   | —           | —   | 23       | 40  | 30        | 24  |
| 101                                                               | 20      | 27  | —           | —   | —           | —   | —           | —   | 29       | 127 | 31        | 131 |
| 102                                                               | 20      | 29  | —           | —   | 22,5        | 35  | —           | —   | —        | —   | —         | —   |
| 102                                                               | 36      | 27  | —           | —   | 22,5        | 42  | —           | —   | —        | —   | —         | —   |
| 104                                                               | 31      | 34  | —           | —   | 40          | 43  | 39          | 64  | 43       | 50  | —         | —   |
| 105                                                               | 36      | 36  | —           | —   | 44          | 47  | 33          | 93  | —        | —   | —         | —   |
| 110                                                               | 24      | 25  | 28          | 28  | —           | —   | —           | —   | —        | —   | —         | —   |
| 111                                                               | 24      | 26  | 23          | 26  | 34          | 32  | —           | —   | —        | —   | —         | —   |
| Poids moyen des organes                                           | 28      | 29  | 25,5        | 27  | 32          | 40  | 36          | 78  | 29       | 78  | 26        | 61  |
| Pourcentage d'accroissement par rapport aux témoins de la souche. |         |     | 6           | 6   | 10          | 33  | 9           | 183 | 11       | 178 | 4         | 142 |

TABLEAU XXXVIII  
ACTION DE L'EXTRAIT P<sub>2</sub> SUR L'OVULATION CHEZ LA LAPINE

| DOSES                             | 1 gamma    |         |           |
|-----------------------------------|------------|---------|-----------|
|                                   | 0 gamma 50 | 1 gamma | 1 gamma 5 |
| Nombre d'animaux ...              | 20         | 20      | 20        |
| Cas positifs .....                | 7          | 11      | 14        |
| Pourcentage de cas positifs ..... | 35         | 55      | 70        |

TABLEAU XXXIX

DOSAGE DE L'ACTIVITE GONADOTROPHIQUE DE DIVERS EXTRAITS PAR RAPPORT A L'EXTRAIT PLACENTO-URINAIRE P<sub>2</sub>

| Produits       | Prostate +<br>Vésicules<br>Séminales | Prostate | Vésicules<br>Séminales | Glandes<br>Préputiales | Utérus | Lapine | Coq |
|----------------|--------------------------------------|----------|------------------------|------------------------|--------|--------|-----|
| P <sub>2</sub> | 1000                                 | 1000     | 1000                   | 1000                   | 1000   | 1000   | —   |
| H <sub>1</sub> | 0,0611                               | 0,0822   | —                      | 0,0683                 | 0,0283 | 0,0380 | —   |
| H <sub>4</sub> | 0,2035                               | 0,112    | 0,187                  | 0,025                  | —      | —      | —   |
| P <sub>1</sub> | 0,0194                               | 0,0235   | 0,00975                | 0,0060                 | 0,0149 | 0,0129 | —   |

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Ce travail est consacré au dosage et à l'étalonnage biologique des extraits préhypophysaires et placento-urinaires à activité gonadotrophique. Quatre problèmes ont été envisagés : la mise au point des méthodes de dosage, le choix de la méthode la meilleure pour sa précision et sa sensibilité, la recherche d'une méthode spécifique, permettant de distinguer les extraits glandulaires des préparations placento-urinaires, enfin le choix d'un étalon servant de référence au dosage des préparations préhypophysaires et placento-urinaires. En voici les conclusions générales.

### I. - Méthodes de dosage biologique

Deux séries de méthodes peuvent être utilisées avec succès pour déterminer l'activité gonadotrophique : les unes sont comparatives, les autres statistiques.

#### 1° *Méthodes comparatives*

a) La méthode utilisant comme test l'apparition précoce des caractères sexuels chez le rat mâle impubère consiste à déterminer l'accroissement de poids par rapport aux témoins de divers organes (prostate, vésicules séminales, pénis, glandes préputiales) après dissection et fixation.

b) Une méthode analogue chez le rat femelle consiste à déterminer dans les mêmes conditions expérimentales l'accroissement de poids des divers organes suivants : utérus, ovaires.

c) Dans ces deux méthodes, il est indispensable de faire cette détermination par rapport à des témoins de même souche, de prendre au moins 6 animaux impubères âgés de 22 à 25 jours et de rapporter le poids des organes à 100 grammes d'animal.

d) La méthode de dosage chez le coq impubère consiste à déterminer le pourcentage d'accroissement de poids des testicules par rapport à ceux des témoins d'une part, et, de l'autre, à mesurer l'accroissement de la surface de la crête produit par le traitement.

e) Dans cette méthode, il est indispensable d'utiliser des coqs impubères âgés de 7 semaines, de race White Leghorn et de rapporter le poids des testicules à 1 kilog d'animal.

f) La mesure planimétrique permet de déterminer avec précision l'accroissement des crêtes.

## 2° Méthodes statistiques

a) La méthode utilisant la lapine consiste à déterminer sur 20 animaux isolés du mâle depuis un mois et de poids voisin de 1 kilog le pourcentage de sujets sur lesquels on observe un ou plusieurs follicules hémorragiques 24 heures après l'injection intraveineuse du produit.

b) La méthode expérimentale sur le rat femelle hypophysectomisé consiste à déterminer la proportion d'animaux sur lesquels on observe la réapparition d'œstrus dans les 96 heures qui suivent l'administration du produit.

## II. - Choix de la méthode optimum de dosage

a) La méthode utilisant la lapine se montre la plus précise. L'erreur moyenne pour cent étant de 11,6 avec la lapine, de 21,6 dans la méthode utilisant le rat mâle (test prostate + vésicules séminales) et de 19,9 dans celle employant le rat femelle (test utérus).

b) Cette méthode est également la plus sensible : la lapine est plus sensible que le rat femelle, lui-même plus sensible que le rat mâle.

c) Seules les deux méthodes utilisant le coq et le rat femelle hypophysectomisé sont spécifiques des préparations préhypophysaires. La première est de réalisation plus facile, mais elle est limitée par la difficulté de se procurer des animaux en toutes saisons.

d) Ces deux méthodes renseignent sur la provenue des préparations envisagées. Cependant seule la comparaison des résultats qu'elles fournissent avec ceux des méthodes non spécifiques permet de conclure à l'absence d'addition d'extrait placent-urinaire à une préparation préhypophysaire.

## III. - Choix d'un étalon

a) Dans l'état actuel de nos connaissances, il n'existe pas d'étalon destiné à servir de référence aux extraits préhypophysaires dont nous avons pu étudier cependant des échantillons actifs.

b) Un extrait placent-urinaire très actif et voisin de la pureté a été utilisé comme étalon des extraits placent-urinaires. Son titre est défini par son activité physiologique sur l'ovulation chez la lapine. Nous suggérons d'adopter arbitrairement comme unité la

dose d'extrait placento-urinaire équivalente en activité à 1 gamma d'étalon, cette dose produisant 55 % d'ovulation chez la lapine 24 heures après l'injection intraveineuse.

c) Cet extrait se montre stable au moins pendant une année.

d) Cet extrait placento-urinaire, dont la courbe d'action est différente de celle des extraits préhypophysaires, ne saurait être adopté comme étalon de ces dernières préparations.

VU : *Le Doyen,*

A. DAMIENS.

VU : *Le Président de Thèse,*

LAUNOY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

*Le Recteur de l'Académie de Paris,*

Gilbert GIDEL.

## BIBLIOGRAPHIE

- AMOUR (M.-C. d') et AMOUR (F.-E. d'). — The assay of gonad-stimulating préparations. (*J. of Pharm. and Exper. Therap.*, 1938, 62, 263.)
- AMOUR (M.-C. d') et VAN DYKE (H.-B.). — The inhibition of oestrus by extracts of the anterior lobe of the pituitary body. (*J. of Pharm. et Exper. Therap.*, 1933, 47, 269.)
- ANSELMINO (K.-J.) et PENCHARZ (R.-I.). — Über die Technik der Hypophysenexstirpation bei verschiedenen Versuchstieren. (*Z. Ges. Exp. Med.*, 1934, 93, 657.)
- ARON et BENOIT (J.). — Sur le conditionnement hormonal du développement testiculaire chez les oiseaux : rôle de la thyroïde. (*C. R. Soc. Biol. Paris*, 1934, 116, 218).
- ASCHEIM (S.). — Die schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons, weitere praktische und theoretische Ergebnisse. (*Zbl. Gynäkol.*, 1929, 53, 15.)
- ASCHEIM (S.) et ZONDEK (B.). — Résumé dans : B. Zondek, *Hormone des Ovarium und des H. V. L.*, 2<sup>e</sup> édition, Vienne, 1935.
- BELLERBY (C.-W.). — The endocrine factors concerned in the control of the ovarian cycle. I *Xaenopus* as a test animal. (*Bioch. J.*, 1933, 27, 615.)
- The endocrine factors concerned in the control of the ovarian cycle. II. *Rana temporaria* as a test animal. III. The action of anterior lobe pituitary extracts on the ovary. (*Bioch. J.*, 1933, 27, 2.022.)

- BORST (M.) et GOSTIMIROVIC (D.). — Weitere Ergebnisse über die Beziehungen zwischen dem Geschlechtshormon des Hypophysenvorderlappens und der männlichen Keimdrüse. Das männchen als das Testobjekt für das Geschlechtshormon des hypophysenvorderlappens. (*Münch. Med. Wschr.*, 1930, 77, 1536.)
- BRINDEAU (A.), HINGLAIS (H.) et HINGLAIS (M.). — Contribution à l'étude quantitative de l'action des hormones préhypophysaires chez la lapine adulte. Application au titrage biologique de l'hormone gonadotrope. (*C. R. Soc. Biol., Paris*, 1932, 111, 582.)
- BROUHA (L.) et SIMONNET (H.). — Nouvelles recherches concernant l'action de l'urine de femme enceinte sur le tractus génital mâle. (*C. R. Soc. Biol. Paris*, 1930, 103, 558.)
- Nouvelles recherches concernant l'action de l'urine de femme enceinte sur le tractus génital femelle. (*C. R. Soc. Biol. Paris*, 1930, 103, 561.)
- BURN (J.-H.). — Methods of biological assay. (*Oxford medical publications*, 1928.)
- CAHEN (R.) et ARDOINT (P.). — Détermination de l'activité gonadotrophique de l'extrait préhypophysaire. (*C. R. Soc. Biol., Paris*, 1936, 123, 547.)
- Titrage biologique de l'activité gonadotrophique d'extraits placento-urinaires. (*C. R. Soc. Biol., Paris*, 1939, 130, 949.)
- CAHEN (R.) et LAUNAY (L.). — Sur l'étalonnage biologique de la scille. Etude de quelques méthodes pratiques de dosage. (*Bull. Sc. Pharm.*, 1937, 44, 257.)
- COESTER (K.). — Die Brunsterregende und Luteinisierende Wirkung von Hypophysenvorderlappenpräparaten. (*Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1932, 168, 745.)
- COLE (H.-H.) et HART (G.-H.). — The potency of the blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in affecting the sexual maturity of the immature rat. (*Amer. J. of Physiol.*, 1930, 93, 57.)
- COLE (H.-H.), GUILBERT (H.-R.) et GOSS (H.). — Further considerations of the properties of the gonad-stimulating principle of mare serum. (*Amer. J. of Physiol.*, 1932, 102, 227.)

- COLLIP (J.-B.), THOMSON (D.-L.) BROWNE (J.-S.-L.) MC PHAIL (M.-K.) et WILLIAMSON (J.-E.). — Placental hormones. (*Endocrinology*, 1931, 15, 315.)
- COLLIP (J.-B.), SELYE (H.) et THOMSON (D.-L.). — Gonad-stimulating hormones in hypophysectomized animals. (*Nature*, 1933, 131, 56.)
- COWARD (K.). — The accuracy of biological estimation of vitamins. (*Anat. Rec.*, 1934, 59, 681.)
- DAENESLY (R.). — The response of immature rats to various gonadotropic substances. (*Quart. J. Pharm.*, 1935, 8, 651.)
- DOMM (L.-V.). — Precocious development of sexual characters in the fowl by homeoplastic-Hypophyseal implants. I. The male. (*Proc. Soc. Exp. Biol., N.-Y.*, 1931, 29, 308.)
- DOMM (L.-V.) et VAN DYKE (H.-B.). — Precocious development of sexual characters in the fowl by daily injections of hebin. I. The male. (*Proc. Soc. Exp. Biol., N.-Y.*, 1932, 30, 349.)
- ENGLE (E.-T.). — The response of the male genital system to treatment with urine from pregnant women and from men. (*Anat. Rec.*, 1929, 43, 187.)
- Experimentally induced descent of the testis in the macacus monkey by hormones from the anterior pituitary and pregnancy urine. The role of the gonadokinetic hormones in pregnancy blood in the normal descent of the testis in men. (*Endocrinology*, 1932, 16, 513.)
- EVANS (H.-M.), MEYER (K.) et SIMPSON (M.-E.). — Relation of prolactin to the anterior hypophyseal hormones. (*Proc. Soc. Exp. Biol., N.-Y.*, 1931, 25, 845.)
- EVANS (H.-M.), MEYER (K.) et SIMPSON (M.-E.). — Relation of prolactin to the anterior hypophyseal hormones. (*Amer. J. of Physiol.*, 1932, 100, 141.)
- EVANS (H.-M.) et SIMPSON (M.-E.). — A comparison of the ovarian changes produced in immature animals by implants of hypophyseal tissue and hormone from the urine of pregnant women. (*Amer. J. of Physiol.*, 1929, 89, 381.)
- The response of the gonads of immature pigeons to various gonadotropic hormones. (*Anat. Rec.*, 1934, 60, 405.)
- EVANS (H.-M.), SIMPSON (M.-E.) et AUSTIN (P.-R.). — The hypophyseal substance giving increased gonadotropic effects when

- combined with Prolan. (*J. Exp. Med.*, 1933, 57, 897 ; 1933, 58, 545.)
- FLUHMANN (C.-F.). — Biological characteristics of ovary-stimulating extracts made from blood of pregnant women. (*Proc. Soc. Exp. Biol. N.-Y.*, 1932, 29, 1193.)
- Comparative studies of gonad-stimulating hormones. III. Effects of prolonged injections in immature rats. (*Amer. J. of Physiol.*, 1933, 106, 238.)
- FREUD (J.). — Sind die als « Hypophysenvorderlappenhormon » bezeichneten Stoffe im harn identisch mit den ähnlich wirkenden Stoffen aus der Hypophyse. (*Dtsch. Med. Wschr.*, 1932, 58, 974.)
- Gonadotrope Wirkungen bei hypophysektomierten Tieren. (*Acta brevia Neerl.*, 1933, 2, 162.)
- FRIEDMAN (M.-H.). — Mechanism of ovulation in the rabbit. II. Ovulation produced by the injection of urine of pregnant women. (*Amer. J. of Physiol.*, 1929, 90, 617.)
- FRIEDMAN (M.-H.) et LAPHAM (M.-E.). — A simple rapid procedure for the laboratory diagnosis of early pregnancy. (*Amer. J. Obstetr.*, 1931, 21, 405.)
- FUSSGANGER (R.). — Lobe antérieur de l'hypophyse et gonade mâle. (*Méd. et Chim*, 1937, 3, 193.)
- GADDUM (J.-H.). — Methods of biological assay depending on a quantal response. (*Medical Research Council*, London, 1933.)
- GIRAGOSSINTZ (G.). — A method for separate removal of either hypophyseal lobe of the rat. (*Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.-Y., 1934, 31, 425.)
- HAMBURGER (Ch.) et PEDERSEN-BJERGAARD (K.). — Assay of gonadotropic hormones. Standardisation curves for pregnant mare's serum hormone and human pregnancy urine hormone. (*Quart. J. Pharm.*, 1937, 10, 662.)
- HILL (R.-T.), PARKES (A.-S.) et WHITE (W.-E.). — The assay of the ovulation-producing substance. (*J. Physiol.*, 1934, 81, 335.)
- HINGLAIS (M.) et BROUHA (L.). — Sur une méthode nouvelle permettant le titrage biologique de principes sexuels du lobe antérieur de l'hypophyse. (*Presse Méd.*, 1931, 85, 1.564.)

- JANSSEN (S.) et LOESER (A.). — Hypophysenvorderlappenpulver und Ovarium. II. Mitt : Die quantitative Answertung der Wirkung. (*Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1930, 151, 188.)
- JONGH (S.-E. de) et KOBER (S.). — Der kombinierte Einfluss von Präparaten mit gonadotropen Hormon aus Harn und Hypophyse bei unkastrierten infantilen weiblichen Ratten. (*Acta Brevia Neerl.*, 1933, 3, 130.)
- KATZMAN (P.-A.) et DOISY (E.-A.). — A quantitative procedure for determining normal excretion of prolactin. (*Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.-Y., 1933, 30, 1.188.)
- KORENCEVSKY (I.), DENNISON (H.) et SIMPSON (S.-L.). — Assay of the gonadotropic hormone of pregnancy urine on male rats. (*Bioch. J.*, 1935, 29, 2.522.)
- KOYAMA (R.). — Über die experimentellen untersuchungen der hypophysenexstirpation an ratten und der wirkung des vorderlappenextraktes der hypophyse. (*Jap. J. Med. Sci. trans. IV. Pharmacol.*, 1930, 4, 84.)
- KRAUL (L.). — Die Beeinflussung der Hypophysenvorderlappenfunktion durch hormonale Substanzen und deren praktische Bedeutung. (*Arch. Gynäk.*, 1932, 148, 65.)
- LEONARD (S.-L.) et SMITH (P.-E.). — Response of the reproductive system of the hypophysectomized rats to injections of pregnancy-urine extracts. II. The female. (*Anat. Rec.*, 1934, 58, 175.)
- LOESER (A.). — Die Wirkung von Hypophysenvorderlappenpulver auf das Ovarium. (*Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1930, 148, 377.)
- Hypophysenvorderlappenpulver und Ovarium. I. Mitt : qualitative Wirkung. (*Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1930, 150, 106.)
- Pharmakologische Methode zur Wertbestimmung der Hypophysenvorderlappenwirkung. (*Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1931, 159, 657.)
- MAXWELL (L.-C.). — The quantitative and qualitative ovarian response to distributed dosage with gonadotropic extracts. (*Amer. J. of Physiol.*, 1934, 110, 458.)
- MOLIEN (M.), AMOUR (F.-E. d') et GUSTAVSON (R.-G.). — Effects of urinary hebin upon immature male rats. (*Endocrinology*, 1937, 17, 295.)

- MOLLER-CHRISTENSEN (E.). — On the technique of hypophysectomy in rats. (*Acta Path. Scand.*, 1933, 10, 131.)
- NELSON (W.-O.) et OVERHOLSER (M.-O.). — The evaluation of gonadotropic hormone preparations on the basis of the rat-mouse ratio assay. (*J. Pharmacol. et Exp. Therap.*, 1935, 54, 378.)
- NOETHER (P.). — Wirkung von Hypophysenvorderlappen auf die Ovulation des HUHUS. (*Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 1931, 160, 369.)
- POMPEN (A.-W.-M.), DINGEMANSE (E.) et KOBER (S.). — Gonadotrope Wirkung bei jungen Vögeln. (*Acta Brevia Neerl.*, 1933, 2, 159.)
- REGNIER (J.), LAMBIN (S.) et SZOLLOSI. — *Journal de Physiol. et Path. Génér.*, 1937, 35, 363, 709, 950.
- REICHERT (F.-L.), PENCHARZ (R.-I.), SIMPSON (M.-E.) MEYER (K.), et EVANS (H.-M.). — Ineffectiveness of prolan in hypophysectomized animals. (*Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.-Y., 1931, 28, 843.)
- Relative ineffectiveness of prolan in hypophysectomized animals. (*Amer. J. of Physiol.*, 1932, 100, 157.)
- REIPRICH (W.). — Über die Biologie und diagnostisch-therapeutisch Bedeutung der sexualhormone des Hypophysenvorderlappens. (*Z. Geburtsh Gynäkol.*, 1934, 109, 285.)
- REISS (M.), PICK (R.) et WINTER (K.-A.). — Unterschiede in der Wirkung des Hypophysenvorderlappen-sexualhormons aus Drüse und Harn. (*Endokrinologie*, 1933, 12, 18.)
- RIDDLE (O.) et FLEMION (F.). — Studies on the physiology of reproduction in birds XXVI. The role of the anterior pituitary in hastening sexual maturity in ring doves. (*Amer. J. of Physiol.*, 1928, 87, 110.)
- RIDDLE (O.) et POLHEMUS (I.). — Studies on the physiology of reproduction in birds. XXXI. Effects of anterior pituitary hormones on gonads and other organ weights in the pigeon. (*Amer. J. of Physiol.*, 1931, 98, 121.)
- ROWE (L.-W.), SIMOND (A.) et NELSON (W.-O.). — The bioassay of the anterior pituitary-like sex hormone (Antuitrin S.). (*J. Amer. Pharm. Ass.*, 1934, 23, 882.)

- ROWLANDS (I.-W.). — The relative activity of different gonadotropic preparations on oestrus rabbits and immature rats. (*Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, 1935, 8, 646.)
- SCHOCKAERT (J.-A.). — Action de substances préhypophysaires de mammifères sur le testicule du canard impubère. (*C. R. Soc. Biol., Paris*, 1931, 108, 429.)
- Response of the male genital system of the immature domestic duck to injections of anterior pituitary substances. (*Anat. Rec.*, 1931, 50, 381.)
- Effet des émulsions et des extraits de préhypophyse de bœuf sur le poids du thymus, des testicules et des thyroïdes chez le canard impubère. (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1931, 41, 23.)
- Le coq impubère comme test de l'hormone gonadotrope préhypophysaire. (*C. R. Soc. Biol. Paris*, 111, 1.095.)
- Sur la non-identité du prolan et de l'hormone gonadotrope préhypophysaire. (*C. R. Soc. Biol. Paris*, 1933, 112, 733.)
- Différences between anterior pituitary sex stimulating hormones and pregnancy-urine substances as tested in the male mammal and birds. (*Amer. J. Physiol.*, 1933, 105, 497.)
- SELYE (H.), COLLIP (J.-B.) et THOMSON (D.-L.). — Further studies on production of thecal luteinisation by means of A.P.L. (*Proc. Soc. Exp. Biol., N.-Y.*, 1933, 30, 780.)
- SHAPIRO (H.-A.) et ZWARENSTEIN (H.). — A rapid test for pregnancy on *Xaenopus Laevis*. (*Nature*, 1934, 133, 762.)
- SMITH (P.-E.). — Ablation and transplantation of the hypophysis in the rat. (*Anat. Rec.*, 1926, 32, 221.)
- Hypophysectomy and replacement therapy in the rat. (*Amer. J. Anat.*, 1930, 45, 205.)
- SMITH (P.-E.), ENGLE (E.-T.) et TYNDALE (H.-H.). — Gametokinetic action of extracts of folliculo-stimulating urine. (*Proc. Soc. Exp. Biol., N.-Y.*, 1934, 31, 745.)
- THOMPSON (K.-W.). — A technique for hypophysectomy of the rat. (*Endocrinology*, 1932, 16, 257.)
- TREVAN (W.). — The error of determination of toxicity. (*Proc. Roy. Soc.*, 1927, 101, 483.)
- WADE (N.-J.). — Histology of the ovary of hypophysectomized rats treated with urinary hebin. (*Proc. Soc. Exp. Biol., N.-Y.*, 1933, 31, 321.)

- WADE (N.-J.), KATZMAN (P.-A.) et JORGENSEN (M.). — The effects of the administration of extracts of hypophysis and of urine from pregnant cases to hypophysectomized rats. (*J. Biol. Chem.*, 1933, 100, XCVI.)
- WALLEN-LAWRENCE (Z.) et VAN DYKE (H.-B.). — Différence between gonad stimulation by extracts of pregnancy urine and of pituitary body. (*Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.-Y., 1931, 28, 956.)
- WEHEFRITZ (E.) et GIERHAKKE (E.). — Über die operative Ausschaltung der Hypophyse bei der Ratte. (*Endokrinologie*, 1932, 11, 241.)
- WHITE (W.-E.) et LEONARD (S.-L.). — Ovarian responses to prolan and anterior pituitary extract in hypophysectomized rabbits with particular reference to ovulation. (*Amer. J. Physiol.*, 1933, 104, 44.)
- ZONDEK (B.). — Hypophysenvorderlappen und Schwangerschaft. (*Endokrinologie*, 1929, 5, 425.)

## TABLE DES MATIÈRES

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUCTION .....                                                                                                                     | 9  |
| PREMIERE PARTIE. — <i>Mise au point de quelques techniques expérimentales de dosage</i> .....                                          | 13 |
| CHAPITRE PREMIER. — Méthodes de détermination de l'activité gonadotrophique par les modifications des organes sexuels chez le rat..... | 19 |
| I. Rat mâle impubère.....                                                                                                              | 20 |
| 1° Conditions expérimentales .....                                                                                                     | 21 |
| A. Choix des animaux.....                                                                                                              | 21 |
| B. Mode de traitement.....                                                                                                             | 21 |
| 2° Technique expérimentale .....                                                                                                       | 21 |
| A. Dissection .....                                                                                                                    | 21 |
| B. Fixation .....                                                                                                                      | 22 |
| C. Pesées .....                                                                                                                        | 22 |
| D. Tests utilisés .....                                                                                                                | 23 |
| II. Rat femelle impubère.....                                                                                                          | 23 |
| 1° Conditions expérimentales.....                                                                                                      | 23 |
| A. Choix des animaux.....                                                                                                              | 23 |
| B. Mode de traitement.....                                                                                                             | 23 |
| 2° Technique expérimentale .....                                                                                                       | 23 |
| A. Dissection .....                                                                                                                    | 23 |
| B. Fixation et pesées .....                                                                                                            | 23 |
| C. Tests utilisés .....                                                                                                                | 24 |
| CHAPITRE II. — Détermination de l'activité gonadotrophique par la méthode statistique de l'ovulation chez la lapine .....              | 25 |
| 1° Conditions expérimentales .....                                                                                                     | 26 |
| A. Choix des animaux.....                                                                                                              | 26 |
| B. Mode de traitement.....                                                                                                             | 26 |

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2° Technique expérimentale .....                                                                                        | 27 |
| A. Anesthésie .....                                                                                                     | 27 |
| B. Opération .....                                                                                                      | 27 |
| a) Technique par voie latérale...                                                                                       | 27 |
| b) Technique par voie médiane...                                                                                        | 28 |
| C. Test utilisé .....                                                                                                   | 28 |
| CHAPITRE III. — Méthodes de détermination de l'activité gonadotrophique spécifiques des préparations glandulaires ..... |    |
| I. Rat femelle hypophysectomisé.....                                                                                    | 31 |
| 1° Conditions expérimentales .....                                                                                      | 31 |
| A. Choix des animaux.....                                                                                               | 31 |
| B. Mode de traitement.....                                                                                              | 32 |
| 2° Technique expérimentale .....                                                                                        | 32 |
| A. Anesthésie .....                                                                                                     | 32 |
| B. Technique opératoire .....                                                                                           | 32 |
| C. Soins post-opératoires .....                                                                                         | 33 |
| D. Test .....                                                                                                           | 33 |
| II. Coq impubère .....                                                                                                  | 33 |
| 1° Conditions expérimentales .....                                                                                      | 34 |
| A. Choix des animaux.....                                                                                               | 34 |
| B. Mode de traitement.....                                                                                              | 34 |
| 2° Technique expérimentale .....                                                                                        | 34 |
| A. Ablation des testicules.....                                                                                         | 34 |
| B. Mensuration des crêtes.....                                                                                          | 35 |
| DEUXIEME PARTIE. <i>Nature des produits utilisés et résultats expérimentaux</i> .....                                   |    |
| CHAPITRE PREMIER. — Origine et nature des préparations soumises aux essais .....                                        |    |
| I. Préparation des produits préhypophysaires...                                                                         | 40 |
| II. Préparation des produits placento-urinaires ..                                                                      | 40 |
| CHAPITRE II. — Résultats expérimentaux chez le rat ...                                                                  |    |
| I. Rat mâle impubère.....                                                                                               | 43 |
| 1° Extraits préhypophysaires .....                                                                                      | 44 |
| A. Augmentation de poids de l'ensemble prostate + vésicules séminales...                                                | 44 |
| B. Augmentation de poids de la prostate et des vésicules séminales....                                                  | 44 |

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| C. Augmentation de poids des glandes préputiales et du pénis.....                                              | 54 |
| 2° Extraits placento-urinaires .....                                                                           | 54 |
| A. Augmentation de poids de l'ensemble prostate + vésicules séminales ..                                       | 54 |
| B. Augmentation de poids de la prostate et des vésicules séminales....                                         | 55 |
| C. Augmentation de poids des glandes préputiales et du pénis.....                                              | 55 |
| II. Rat femelle impubère.....                                                                                  | 55 |
| 1° Extraits préhypophysaires .....                                                                             | 56 |
| A. Extraits H <sub>1</sub> .....                                                                               | 56 |
| B. Extraits H <sub>2</sub> et H <sub>3</sub> .....                                                             | 56 |
| 2° Extraits placento-urinaires .....                                                                           | 56 |
| A. Extrait P <sub>1</sub> .....                                                                                | 62 |
| B. Extrait P <sub>3</sub> .....                                                                                | 62 |
| CHAPITRE III. — Résultats expérimentaux chez la lapine.                                                        | 65 |
| I. Extraits préhypophysaires .....                                                                             | 66 |
| II. Extraits placento-urinaires .....                                                                          | 66 |
| CHAPITRE IV. — Résultats expérimentaux concernant les méthodes spécifiques .....                               | 69 |
| I. Action sur le rat femelle hypophysectomisé...                                                               | 69 |
| II. Action sur le coq impubère.....                                                                            | 70 |
| TROISIEME PARTIE. — <i>Etude critique de la valeur et de la précision des diverses méthodes employées.....</i> | 75 |
| CHAPITRE PREMIER. — Détermination des écarts expérimentaux .....                                               | 79 |
| I. Rat mâle .....                                                                                              | 79 |
| II. Rat femelle .....                                                                                          | 81 |
| III. Lapine .....                                                                                              | 81 |
| CHAPITRE II. — Comparaison des résultats fournis par les différentes méthodes.....                             | 83 |
| CHAPITRE III. — Précision des méthodes .....                                                                   | 85 |

|                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CHAPITRE IV. — Sensibilité des différentes méthodes....                                              | 87  |
| CHAPITRE V. — Spécificité des méthodes pour les produits préhypophysaires .....                      | 89  |
| QUATRIEME PARTIE. — <i>Etude du choix et du titre d'un étalon</i> .....                              | 93  |
| CHAPITRE PREMIER. — Etude critique et choix des divers étalons de préparations gonadotrophiques..... | 95  |
| CHAPITRE II. — Préparation des étalons.....                                                          | 99  |
| CHAPITRE III. — Titre de l'étalon.....                                                               | 101 |
| CHAPITRE IV. — Titre des préparations commerciales..                                                 | 105 |
| CONCLUSIONS GÉNÉRALES .....                                                                          | 109 |
| BIBLIOGRAPHIE .....                                                                                  | 113 |



